

SÉRIE A
N° SÉRIE 1340
N° D'ORDRE
2209

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-^{SCS} NATURELLES

PAR

Madame Andrée COURTOIS-DRILHON

1^{re} THÈSE. — Les cristaux liquides dérivés du cholestérol.

2^{me} THÈSE. — Le phosphore chez les végétaux.

Soutenues le 12 Novembre 1931 devant la Commission d'examen

MM. P. PORTIER, *President*

MAUGUIN } *Examineurs*
COMBES }

PARIS

GASTON DOIN & C^{ie}, ÉDITEURS

8, PLACE DE L'ODÉON, 8

1931

SÉRIE A
N° SÉRIE 1340

N° D'ORDRE
2209

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-^{SCS} NATURELLES

PAR

Madame Andrée COURTOIS-DRILHON

1^{re} THÈSE. — Les cristaux liquides dérivés du cholestérol.

2^{me} THÈSE. — Le phosphore chez les végétaux.

Soutenues le Novembre 1931 devant la Commission d'examen

MM. P. PORTIER, *Président*

MAUGUIN {
COMBES { *Examineurs*

PARIS

GASTON DOIN & C^{ie}, ÉDITEURS

8, PLACE DE L'ODÉON, 8

1931

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen MM.

Doyen honoraire.

Professeurs honoraires

C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe

M^r MOLLIARD.

H. LE CHATELIER.

H. LEBESGUE.

A. FERNBACH.

A. LEDUC.

E. HÉROUARD.

EMILE PICARD . . .

E. GOURSAT . . .

G. KÖNIGS . . .

P. JANET . . .

F. WALLERANT . .

P. PAINLEVÉ . . .

M. CAULLERY . . .

EMILE BOREL . . .

H. ABRAHAM . . .

M. MOLLIARD . . .

E. CARTAN . . .

Gabriel BERTRAND

Jean PERRIN . . .

L. LAPICQUE . . .

M^{me} P. CURIE . . .

G. URBAIN . . .

L. MARCHIS . . .

E. VESSIOT . . .

Analyse supérieure et algèbre supérieur.

Calcul différentiel et calcul intégral.

Mécanique physique et expérimentale.

Electrotechnique générale.

Minéralogie.

Mécanique analytique et mécanique céleste.

Zoologie (Evolution des êtres organisés).

Calcul des Probabilités et Physique mathém.

Physique.

Physiologie végétale.

Géométrie supérieure.

Chimie biologique.

Chimie physique.

Physiologie générale.

Physique générale et radioactivité.

Chimie générale.

Aviation.

Théorie des fonctions et théorie des transformations.

Physique générale.

Application de l'analyse à la géométrie.

Physique.

Théories chimiques.

Physiologie comparée.

Zoologie.

Chimie organique

Botanique.

Zoologie (Enseignement P. C. N.).

Géologie structurale et géologie appliquée.

Biologie expérimentale.

Calcul différentiel et intégral.

Mécanique rationnelle.

Chimie appliquée.

Anatomie et histologie comparées.

Biologie maritime.

Physique théorique et physique céleste.

Étude des combustibles.

Géographie physique et géologie dynamique

Mécanique des fluides et applications.

Géologie.

Chimie minérale.

Théories physiques.

Astronomie.

Mécanique expérimentale des fluides.

Minéralogie.

Botanique.

Mathématiques générales.

Physique (P.C.N.).

Botanique (P.C.N.).

Professeurs.

A. COTTON . . .

J. DRACH . . .

Charles FABRY . .

R. LESPIEAU . . .

P. PORTIER . . .

Charles PÉREZ . .

E. BLAISE . . .

P.-A. DANGEARD.

Rémy PERRIER.

Léon BERTRAND . .

É. RABAUD . . .

G. JULIA . . .

Paul MONTEL . . .

V. AUGER . . .

P. WINTREBERT . .

O. DUBOSCQ . . .

Eugène BLOCH . .

A. MAILHE . . .

L. LUTAUD . . .

Henri VILLAT . .

Ch. JACOB . . .

P. PASCAL . . .

Léon BRILLOUIN . .

É. ESCLANGON . .

H. BENARD . . .

MAUGUIN . . .

L. BLARINGHEM . .

A. DENJOY . . .

A. DUFOUR . . .

A. GUILLIERMOND.

M. FRÉCHET . . . Calcul des Probabilités et
Physiques mathémat.

M^r RAMART-LUCAS Chimie organique.

BÉGIN Mécanique théorique des
fluides.

FOCH Mécanique expérimentale
des fluides.

PAUTHENIER . . . Physique (P.C.N.).

VILLEY Mécanique physique et
expérimentale.

DE BROGLIE . . . Théories physiques.

LABROUSTE . . . Physique du Globe.

FREUNDLER . . . Chimie (P.C.N.).

PRENANT Zoologie

P. JOB Chimie générale.

CHRÉTIEN Optique appliquée.

E. PECHARD . . . Chimie (Enseig^t P.C.N.).

A. GUILLET . . . Physique.

M. GUICHARD . . . Chimie minérale.

A. MICHEL-LÉVY . . Pétrographie

A. DERRIMS . . . Géologie

H. MOUTON . . . Chimie physique

L. DUNOYER . . . Optique appliquée

M. JAVILLIER . . . Chimie biologique.

ROBERT-LÉVY . . . Zoologie.

A. DEBIERNE . . . Radioactivité.

E. DARMOIS . . . Physique.

G. BRUHAT . . . Physique.

F. PICARD Zoologie (Evolution des

êtres organisés).

L. JOLEAUD . . . Paléontologie.

Secrétaire. A. PACAUD



A mon mari

A tous les miens

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PORTIER

Membre de l'Académie de Médecine

Professeur à la Faculté des Sciences

et à l'Institut Océanographique

En témoignage de profonde gratitude
et de respectueux attachement.

PREMIÈRE THÈSE

ÉTUDES BIOCHIMIQUES
SUR LA MÉTAMORPHOSE
DES LÉPIDOPTÈRES

SOMMAIRE

INTRODUCTION

HISTORIQUE

CHAPITRE I. — Généralités Biophysiques.

1. — Variation pondérale des chrysalides.
2. — Teneur en eau.
3. — Etudes des cendres.
4. — Toxicité du sang des nymphes.
5. — Phénomènes respiratoires.
6. — Potentiel d'oxydo-réduction : le glutathion.

CHAPITRE II. — Phase Plastique

1. — Généralités - Constitution des Protides.
2. — L'azote total au cours de la nymphose.
3. — L'azote non protéique ; sa variation au cours de la métamorphose.
4. — Les Peptones : leur date d'apparition - leurs variations
5. — Les acides aminés :
Variation des acides $\left\{ \begin{array}{l} \text{monoaminés.} \\ \text{diaminés.} \end{array} \right.$
6. — L'acide urique : son évolution.
7. — Le méconium.
8. — Le Phosphore au cours de la nymphose -
Phosphore total et Phosphore minéral.

CHAPITRE III. — Phase Énergétique

1. — Introduction.
2. — Les Lipides - Généralités - Historique - Méthodes de dosage.
3. — Métabolisme des corps gras totaux au cours de la nymphose.
4. — Les Substances insaponifiables - leur rôle physiologique.
5. — Le Cholestérol et le coefficient lipocytiqne.
6. — Les Glucides de réserve : a) Le Glycogène.
b) Le Glucose.

CHAPITRE IV. — Les Ferments.

1. — Introduction - Considérations sur les ferments en général.
2. — Les ferments protéolytiques des lépidoptères.
 - a) Ferments leucocytaires, leur mise en évidence.
 - b) La Protéolyse.

Conclusions

Index Bibliographique

ÉTUDES BIOCHIMIQUES SUR LA MÉTAMORPHOSE DES LÉPIDOPTÈRES

INTRODUCTION

Métamorphose ! Ce mot évoque un travail mystérieux que l'esprit humain contemple dans une sorte d'extase sans pouvoir l'expliquer.

Aussi est-ce aux Dieux du Paganisme que les premiers humains attribuèrent cette puissance suprême, cette « métamorphé » des Grecs, ce changement de forme de l'animal à la plante ou de l'homme au rocher. Et cette introduction du divin ou du surnaturel dans l'explication de phénomènes d'évolution courante et pour ainsi dire quotidiens ne devait pas tarder à trouver sa place dans l'entomologie antique.

Deux et trois mille ans avant Jésus-Christ les prêtres de Chaldée ou d'Égypte confiaient déjà à leurs tablettes de terre cuite ou à leurs manuscrits de papyrus le symbole qu'ils avaient attaché au mystère de la métamorphose. Le papillon léger qui sort de son cocon pour s'élever vers les nuées en laissant derrière lui sa dépouille mortelle, c'est l'âme, la matière subtile qui se sépare du corps à l'heure dernière pour s'exhaler comme un souffle.

Maspéro raconte avec un vif intérêt la place que ce phénomène riche de significations tenait dans les récits des temps pharaoniques.

Plus près de nous déjà, dans la Grèce antique, avec Homère, nous retrouvons ce symbole de la « Psyché », ce papillon qui s'envole comme l'esprit sort de la chair.

Plus l'on s'éloigne du domaine de la mythologie pure, plus se précise et s'accroît ce qu'un écrivain contemporain a si justement dénommé cet « émerveillement de l'Inconnu ».

Aristote, « sphynx nocturne de la Grèce », aimait à promener sa belle tête grave et ses yeux émerveillés à travers les bois d'oliviers et les prairies en fleurs toute bruisantes de papillons. Son sens aigu de l'observation lui avait fait remarquer les trois stades de la métamorphose : l'œuf, la chenille et le papillon ; et, quand au soir de ses promenades solitaires la fatigue l'assaillait, son œil s'amusait à suivre sur les choux de son jardin le lent et patient travail d'une gloutonne « Piéride » dont il donne cette description :

« Ceux qu'on appelle papillons naissent de chenilles qui commencent par être plus petites qu'un grain de millet ; ensuite, elles grossissent et restent sans mouvement. Elles changent de forme : on les appelle des chrysalides. Elles sont dans un étui dur ; quand on les touche elles remuent. Elles sont souvent entourées de fils qui ressemblent à ceux de l'araignée. Après un certain temps, l'étui se rompt et il en sort des animaux tout ailés que l'on nomme papillons. D'abord, quand ils sont chenilles, ils mangent et rejettent des excréments. Mais une fois devenus papillons, ils ne prennent ni ne rejettent rien... » »

Il y a là plus que la banale observation d'un profane, autre chose que la simple transcription d'une série d'événements uniquement reliés entre eux par une chronologie rigoureuse.

Sous ces modifications de forme, sous ces divers aspects de la « morphologie » de l'insecte, Aristote a su entrevoir (oh ! bien faiblement, certes !), mais enfin laisser deviner que dans ce monde mystérieux où son esprit aimait à plonger il y avait de profondes modifications intimes, une mutation de la matière vivante : il avait soupçonné l'existence de la « physiologie » de la métamorphose.

Les disciples du philosophe grec prolongent à leur tour les investigations du maître et l'*Histoire des Plantes* de Théo-

phraste, malgré ce titre si strictement botanique, fourmille de fines observations sur les *Mystères des chenilles et des papillons*.

Ces quelques rappels d'un passé que nous avons limité volontairement, dans le temps et dans l'espace, aux avant-jours de l'Ere chrétienne et aux rives de la Méditerranée, laissent cependant prévoir quelles devaient être dans la suite l'attrait exercé sur l'esprit des « Passionnés de l'Inconnu » par un si troublant problème.

Le terme de « métamorphose » sert, comme chacun sait, à désigner les phénomènes les plus variés que présente le développement des êtres vivants ; le développement des insectes est un des cas les mieux caractérisés de ces ontogénies d'allure particulière. Elles sont remarquables en ce que le changement complet de la forme de l'animal s'accompagne d'une destruction presque totale de l'organisme en évolution.

La larve, chez les Lépidoptères (et en général chez les Holométaboles) est un être adapté aux fonctions de nutrition : elle accumule dans ses tissus la majeure partie de ses aliments qui deviennent des réserves nutritives. L'imago, au contraire, est un organisme uniquement reproducteur : sa physiologie est conditionnée par la constitution de ses éléments sexuels, l'accouplement et la ponte. Le papillon peut rester accouplé de 24 à 48 heures ; le mâle meurt quelques heures après la copulation et la femelle quelques heures après la ponte.

Chez les lépidoptères que nous avons étudiés, la vie nymphale est très longue, s'étendant des derniers jours de juillet jusqu'au printemps suivant. Le « *Saturnia Pyri* », très souvent, n'éclôt pas avant la deuxième ou la troisième année. Pendant cette période nymphale les fonctions de relation sont réduites à néant ; les muscles abdominaux permettent à peine quelques mouvements qui n'entraînent pas de déplacement effectif ; les fonctions de nutrition ont disparu : avant de se transformer en nymphe la chenille a vidé son tube digestif, désormais sans emploi. On se trouve donc en présence d'un être vivant qui respire, change de

poids, élimine de la vapeur d'eau et du carbone sous forme de CO_2 , et dont les déperditions ne sont pas compensées puisqu'il n'y a aucun apport du milieu extérieur. Et cependant cette nymphe est le siège de réactions complexes, d'un travail chimique incessant, dont l'objet est de transformer les tissus d'un être hautement organisé, la chenille, en ceux d'un insecte parfait tout différent : le papillon.

Que se passe-t-il dans l'intimité des tissus de cette nymphe mystérieuse qui semble s'endormir dans la mort pour renaître ensuite ?

On a donné plusieurs explications de ce phénomène. Les uns, comme Bataillon, ont proposé d'y voir les conséquences d'un état asphyxique ; d'autres, comme Pérez, ont supposé une crise de maturité génitale. Les excellents travaux sur lesquels ces hypothèses ont été fondées offrent un ensemble d'observations minutieuses qui constituent le bilan de nos connaissances sur ce vaste sujet.

Mais aucune des théories proposées (hérédité, adaptation, répétition des stades ontogéniques) n'ont par elles-mêmes une signification précise : aucune ne satisfait l'esprit.

Sans doute faudra-t-il pour trouver une explication raisonnable et qui couvre le phénomène de nombreuses années et de nombreux chercheurs. C'est à cet édifice biologique dont l'objet est la métamorphose des lépidoptères que nous essayons d'apporter une modeste contribution, en exposant nos recherches sur les modifications bio-chimiques qui l'accompagnent.

On est accoutumé, à juste titre, de considérer du point de vue dynamique, un organisme vivant comme une « machine », au sens défini que les Sciences Physiques confèrent à ce mot, c'est-à-dire un transformateur d'énergie.

Or, quelles sont les caractéristiques essentielles du fonctionnement de toute machine ?

Primo : Le travail qu'elle fournit, qu'il soit constructif ou destructif.

Secundo : La source où elle doit puiser l'énergie nécessaire et la nature des matériaux énergétiques.

Tertio : Le mécanisme intime, les rouages simples ou compliqués qui conditionnent et régissent cette transformation d'énergie.

Transposons ces données mécaniques au cas qui nous intéresse et considérons l'insecte dans la pleine activité de sa vie nymphale :

Le travail qu'il fournit (à la fois destructif et constructif), mais c'est le double et formidable phénomène qu'est l'histolyse et l'histogénèse, décomposition des éléments constitutifs de l'insecte jusqu'au stade ultime de dégradation et la réédification, à l'aide de ces matériaux de démolition, de molécules complexes qui formeront le tissu vivant de l'imago.

La source où la chrysalide puise l'énergie dont elle a besoin pour cette double opération, nous en voyons une — et presque l'unique — dans l'utilisation des réserves accumulées par la larve tant sous forme de lipides que de glucides, sans négliger de noter le rôle particulièrement important que jouent dans ce chapitre les substances insaponifiables.

Enfin le mécanisme propre à l'utilisation de cette énergie et son adaptation au travail d'analyse et de synthèse réside — à notre avis — dans l'activité diastasique. On sait le rôle si considérable de catalyse que jouent dans la dynamique biologique ces ferments, substances inconnues, chimiquement indéfinies et dont la puissance d'action extraordinaire permet de réaliser à des températures, sous des pressions et en des temps ordinaires et minimes ce que le Laboratoire et l'Industrie n'atteignent que sous des dizaines d'atmosphères, à des hauteurs de four électrique et au prix de longues semaines d'expérience.

Il n'est point besoin de rappeler à quelles difficultés se sont heurtés les biologistes lorsqu'ils ont voulu réaliser par le seul moyen de la physique et de la chimie, la synthèse de la matière vivante. Or, ce travail formidable, le petit être, vivant au ralenti, qu'est la chrysalide, l'accomplit avec une régularité, une précision et un absolu devant lequel on reste stupéfait.

Cette dissociation de l'individu et sa reconstitution en un être nouveau, nous l'avons suivie à ses stades différents et la Chimie a fixé pour nous des points de repère tout au long de la vie nymphale, remplissant les pages d'un chapitre que nous avons dénommé : « Phase plastique. »

Parallèlement à ce travail, les dosages répétés des composants énergétiques de la chrysalide (glucides et lipides de réserve) nous ont permis de suivre leur évolution et de rapporter à ceux-ci l'origine de la puissance consommée, et c'est la phase à laquelle nous avons donné le nom de « Phase énergétique ».

Enfin, nous n'avons pu que soulever discrètement le voile qui cache encore les mystères si attrayants de « *l'activité fermentaire* ». Mais nous voulons espérer que nous pourrions, par la suite, pénétrer encore davantage sur ce terrain peu connu. Et, s'il ne nous est pas loisible de le faire, nous aurons eu sans doute la joie d'avoir montré une voie à suivre, une de celles si nombreuses qui peut atteindre à la découverte de la Vérité.

Nous n'avons pas ici la prétention d'aborder un sujet nouveau mais plutôt une idée nouvelle : il n'y a qu'à fouiller les bibliographies plus ou moins complètes qui traitent de l'Entomologie pour y trouver une foule de références.

Mais la physio-chimie n'a guère motivé jusqu'alors que des recherches monographiques portant sur un ou deux éléments chimiques. C'est pourquoi nous avons jugé bon d'étendre et de prolonger les notions déjà acquises et les résultats ont justifié nos efforts en nous permettant, par la comparaison des chiffres obtenus, cette légère contribution à l'étude biochimique de la Métamorphose.

PRÉFACE

Avant d'exposer notre travail, qu'il nous soit permis d'assurer de notre respectueuse reconnaissance ceux qui ont permis que ces recherches soient menées à bonne fin.

Nous évoquons d'abord, très respectueusement, la mémoire de S. A. S. le Prince Albert de Monaco ; nous avons poursuivi nos recherches dans le Laboratoire de Physiologie de son « Institut Océanographique », où l'hospitalité la plus généreuse nous a été offerte depuis quatre années.

M. le Professeur Portier voulut bien nous accueillir dans son laboratoire et c'est à son instigation et sous sa direction que fut accompli ce travail. On connaît tout l'intérêt qu'il porte depuis de longues années au monde mystérieux des Insectes et c'est lui qui nous a donné le goût d'entreprendre des recherches sur la Métamorphose. Sa critique éclairée, sa grande bienveillance ont été pour nous le plus précieux appui et il facilita nos travaux en nous faisant accorder le bénéfice d'une subvention sur le legs Commercy.

C'est pour nous un réel plaisir de l'assurer aujourd'hui de notre très profonde gratitude et affectueuse reconnaissance.

Nous adressons nos très respectueux remerciements à M. le Professeur Bouvier, Membre de l'Institut, Professeur honoraire au Muséum, Président honoraire de la Société Entomologique de France, qui nous a permis d'utiliser un matériel particulièrement dispendieux (chenilles et chrysalides) en faisant obtenir au Laboratoire des crédits de la Caisse des Recherches Scientifiques.

M. le Professeur Pérez, en manifestant à maintes reprises l'intérêt qu'il prenait à nos recherches, nous a apporté un encouragement précieux dont nous lui sommes particulièrement reconnaissants.

Nous remercions aussi très vivement M. le Professeur Mayer de nous avoir fait l'honneur d'accepter de publier notre travail dans les *Annales de Physiologie et de Physico-Chimie Biologiques*.

Nous exprimons notre affectueuse gratitude à M. Marcel Duval, qui fut le premier à nous initier aux techniques longues et difficiles de la Biochimie, et nous associons à nos remerciements M. Cassas, Secrétaire de l'Institut Océanographique, pour son obligeance inlassable, M^{me} de Rorthays, M^{lle} Raffy, M^{me} Maurice Fontaine, M. René Clogne et M. Fontaine, qui nous ont apporté, au cours de ces années de travail, une amicale et précieuse collaboration.

HISTORIQUE

Il n'existe qu'un nombre très restreint de travaux d'ensemble sur la physiologie de la métamorphose. La plupart ne se rapportent qu'à des sujets particuliers et concernent tous l'étude de la constitution chimique du *Bombyx Mori*. Il n'a rien été fait, à notre connaissance, sur des lépidoptères à longues métamorphoses et c'est à dessein que nous les avons choisis.

Nous donnerons ici un aperçu des principales recherches intéressant la constitution chimique et la physiologie du ver à soie. La bibliographie qui a trait à l'étude particulière d'un élément trouvera sa place au début de chaque chapitre respectif.

Le premier travail d'ensemble sur la Métamorphose du ver à soie est celui de *Bataillon*, paru en 1893. C'est un travail purement physiologique qui étudie surtout la circulation et la respiration pendant la nymphose.

I. *Circulation*. — L'auteur étudie le phénomène si curieux de l'inversion du rythme circulatoire aux approches de la métamorphose. C'est *Malpighi* qui, le premier, relate ce phénomène ; puis *Cornalia* en 1856, et enfin *Fischer* et *Gerould* qui modifient légèrement les conclusions auxquelles était arrivé *Bataillon*.

En résumé, la circulation s'inverse vers le deuxième jour du filage pour ne reprendre son allure typique qu'au moment de l'éclosion du papillon.

Chez l'insecte parfait *Gerould* prétend que le mouvement péristaltique persiste et qu'il est nécessaire pour donner l'impulsion aux ailes.

La circulation directe se fait d'arrière en avant, la circulation inverse d'avant en arrière. Les contractions inverses durent 10 minutes environ. Les contractions normales 20 minutes. Ces temps sont valables au début du filage, mais au

bout de 12 heures, les temps s'égalisent sensiblement. Pendant la nymphose, la circulation inverse dure 40 minutes et la circulation normale 5 minutes.

II. *Respiration*. — Bataillon, reprenant l'étude de *Paul Bert*, commencée en 1885, met en évidence par un mode opératoire compliqué que la respiration subit pendant la nymphose des troubles assez profonds et en particulier une baisse considérable dans l'élimination du CO^2 .

Il conclut que ces phénomènes, coïncidant avec le début de l'histolyse sont le point de départ de manifestations asphyxiques et il s'appuie sur ces conclusions en même temps que sur l'étude de la circulation et de la destination du glycogène pour établir une théorie sur le déterminisme évolutif.

En 1901 paraît le mémoire de *Dubois* et *Couvreur*, ayant trait à la variation de certains constituants chez le Bombyx Mori.

Puis *Maignon* et, les années suivantes, *Vaney* et *Maignon*, et *Vaney* et *Comte* (1904-1905) étudient systématiquement la variation des albumines solubles, des graisses et du glycogène au cours des transformations.

Nous verrons les résultats auxquels ces auteurs étaient parvenus lors de l'étude de ces constituants.

En 1928, M^{me} Chevallard a ajouté à ces résultats acquis une étude sur le Phosphore et la composition chimique du cholestérol des Insectes.

Tous ces travaux se sont attachés à déterminer la date d'apparition d'un élément et à suivre ses variations dans toutes les formes présentées par l'insecte.

D'autres auteurs ont cherché quels pouvaient être les rapports entre la composition chimique du ver à soie et celle de la feuille qu'il consomme, ainsi que le métabolisme des principaux éléments constitutifs de la feuille dans leurs passages à travers le corps de l'insecte ; ce sont les travaux japonais de *Karvasa* (1914), *Sawamura* (1916) et *Eikiti Hisatsuko* (1920).

Nous n'entrerons point dans le détail de ces relations : ceci sortirait du cadre que nous nous sommes fixés.

Péligot, Verson et Quajat ont établi la composition centésimale des cendres du *Bombyx Mori*.

En 1926-1927, *Rudolfs* a fait un travail fort intéressant sur le métabolisme azoté du *Bombyx Mori*.

Enfin, *Heller*, en 1925-1926, a fait une comparaison intéressante entre les larves de deux espèces de lépidoptères.

L'énoncé des sujets de recherche des différents auteurs précités montre la diversité et surtout la spécificité de leurs travaux.

Certains semblent avoir plutôt étudié telle ou telle question plus comme corollaire d'un travail de physio-chimie générale touchant à l'ensemble du règne animal et dans lequel les insectes ne comptaient qu'en tant que membres de la série.

D'autres ont borné leur ambition à quelques points de détail qu'ils ont cherché à élucider, mais sans pousser très loin leurs investigations.

Aussi, croyons-nous être les premiers à avoir essayé de coordonner en les vérifiant par l'expérience ces notions épar-
ses, de les compléter par des recherches nouvelles, en essayant de déduire des chiffres accumulés par nos dosages plus qu'une simple relation quantitative.

BIBLIOGRAPHIE

(Introduction et Historique)

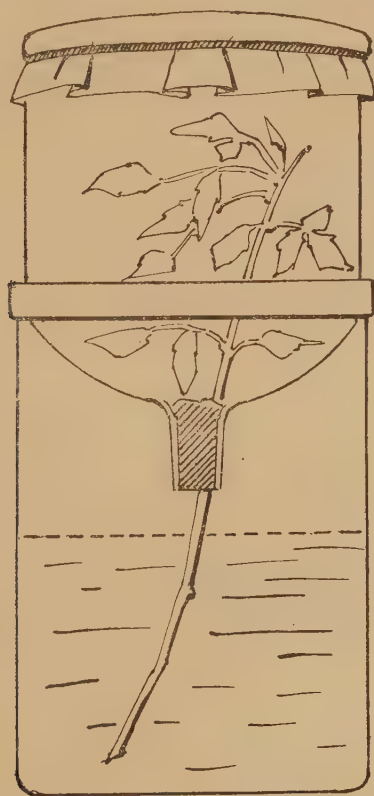
- BATAILLON. — Métamorphose du ver à soie et le déterminisme évolutif. *Bull. Scient. France et de Belgique*, t. XXV, 1893.
- BERLESE. — Intorno alle modificazioni d'alcune tessuti durante la nimfosi della caliphora erythrocephala. *Bull. Soc. Entomologica italiana*, 1900, Anno 32.
- Osservazioni su fenomeni che avvengono durante la nimfosi degli Insetti metabolici. *Revista pat. veg.* (Anno 8, 9 et 10, 1900).
- CHEVALLARD (M^{lle}). — Contribution à l'étude chimique du ver à soie (Thèse doctorat en pharmacie, Lyon, 1928).
- FAURÉ-FRÉMIET. — *Journal de Path. gén.*, 1915, t. XVI, p. 808 et suiv.
- GIARD. — Sur la détermination de la métamorphose. *C. R. Soc. Biol.*, fév. 1900.
- HENNEGUY. — Les Insectes, 1904. Morphologie, reproduction, embryologie.
- LAMERRE. — La raison d'être des métamorphoses chez les insectes. *Ann. de Soc. Ent. Belgique*, t. XLIV, 1899.
- PÉREZ (Ch.). — Contribution à l'étude des métamorphoses. *Thèse Paris*, 1902, p. 383.
- RUDOLFS (W.). — Studies on chemical changes during the life cycle of the tent caterpillar (*Malacosoma americana* Fabr.). *Journ. New York Ent. Soc.* 1926, t. XXXIV, p. 249, 256, 319, 330.
- TANGL. — Zur Kenntniss des Stoff- und Energieumsatzes holometaboler Insekten während des Metamorphoses. *Pfl. Arch.*, t. CXXX, p. 55-89, 1909.
- TERRE. — Sur les troubles physiologiques qui accompagnent la métamorphose des insectes holométaboliens. *C. R. Soc. Biol.*, 1898.
-
-

CHAPITRE PREMIER

GÉNÉRALITÉS PHYSIQUES ET CHIMIQUES

TECHNIQUES D'ÉLEVAGE

L'étude biochimique des Lépidoptères à longue métamorphose a nécessité un matériel rare et dispendieux et nous remercions encore ici MM. les Professeurs Portier et Bou-



vier de nous avoir fourni toutes les possibilités d'acheter ces animaux.

Nos premières chrysalides nous sont parvenues de Dalmatie et de Haute-Egypte (*Sphinx ligustri* et *pinastri*, *Saturnia Pyri*), d'autres d'Allemagne (*Attacus Cynthia*, *Pernyi* et *Saturnia Pavonia*).

Enfin, pour étudier le cycle complet du développement nous avons effectué nous-mêmes un certain nombre d'élevages qui présentèrent souvent les plus grandes difficultés. Nous décrirons rapidement notre méthode inspirée de celle de M. le Professeur Portier.

Les petites larves à l'éclosion sont mises dans une cloche à tubulure analogue aux cloches à vide et renversée sur un vase contenant de l'eau. Cette cloche était remplie de branches de feuillage, nourriture spécifique et exclusive de l'insecte que l'on veut étudier. Elle était fermée à sa partie supérieure par une tarlatane tandis que la tubulure était garnie de coton hydrophile, lequel maintenait dans l'enceinte une atmosphère d'humidité.

Le schéma ci-contre illustre ce dispositif. Ce moyen commode permet d'élever des chenilles jusqu'à l'âge adulte. Toutefois il faut renouveler les feuillages tous les deux jours et procéder en même temps au nettoyage de la cuve. Il faut éviter également de toucher aux jeunes larves avec les mains : elles sont particulièrement délicates et la moindre blessure provoque leur mort ; on les fait donc passer par leurs propres moyens sur les branches fraîches qui viennent remplacer les anciennes.

Une autre difficulté était de trouver à l'époque de l'éclosion, époque qui varie énormément avec la température, une nourriture appropriée à l'espèce. Chaque genre de lépidoptère a un régime nutritif très spécial ; il nous fallait trouver :

de l'ailanthe pour *Attacus Cynthia* ;

du chêne pour *Attacus Pernyi* ;

du poirier ou du prunier pour les Saturnidés ;

du lilas ou du troène pour les Sphinx.

Ces difficultés ont été accrues du fait que les animaux éclos à une période variable de l'année, il n'était pas toujours aisé de trouver la végétation de nos climats en accord avec leurs besoins nutritifs.

Nous avons été aidé dans cette tâche par M. Metché, que nous remercions tout particulièrement à cette occasion.

Dans la suite de notre travail, nous donnons au début de chacun des chapitres la technique de dosage utilisée pour étudier les variations du composé chimique considéré, nous nous bornerons donc à mentionner en débutant que nous avons fait usage pour toutes nos déterminations colorimétriques du Comparateur de Hellige, appareil qui nous a donné quant à son fonctionnement et à la précision de ses résultats toute satisfaction désirable.

Avant d'entreprendre l'exposé de la partie proprement biochimique de notre travail, il nous paraît indispensable de rassembler dans un chapitre liminaire les données classiques sur quelques points particuliers du métabolisme des lépidoptères.

Nous avons réuni les notions acquises par les travaux les plus récents et nous les avons souvent complétées par des dosages personnels concernant nos espèces. Nous y avons adjoint quelques recherches sur les « transporteurs d'hydrogène » tels que le glutathion.

Au cours de l'exposé de l'ensemble de nos recherches chimiques, nous avons toujours exprimé nos résultats en grammes ou milligrammes pour 100 ou 1.000 grammes de tissus *frais* : c'est volontairement que nous ne les avons pas rapportés à un poids de tissus secs.

Nous voulions, en effet, que notre travail soit avant tout un travail de physiologie. Or, il est de toute évidence que l'évaluation d'un constituant par rapport à un tissu frais présente un intérêt dominant et il est tout à fait illogique de ne pas tenir compte de l'eau, constituant des tissus dans une interprétation biologique.

Toutefois, nous avons établi avec soin, au cours de nos recherches, la teneur en eau des organes considérés et par cela même la quantité de substances sèches : la valeur absolue d'un constituant se déduit par simple calcul.

Nous rassemblerons donc ici :

1° La variation pondérale des chrysalides au cours de la nymphose ;

2° La teneur en eau ;

3° L'étude des cendres ;

4° L'étude de la toxicité du sang des nymphes ;

5° L'étude des phénomènes respiratoires ;

6° Le glutathion.

I. VARIATION PONDÉRALE DES CHRYSALIDES

Les deux courbes que nous donnons ici ont été établies, l'une par P. Portier et M^{me} de Rorthays pour un travail spécial sur ce sujet paru en 1926, et l'autre par nous-mêmes, concernant spécialement le « *Saturnia Pavonia* ».

Toutes les chrysalides étaient pesées au milligramme près, par double pesée sur une balance sensible au dixième de milligramme : elles étaient conservées dans leur milieu naturel et à l'obscurité, à savoir :

Les *Attacus*, *Saturnia* et *Bombyx*, à l'air ;

Les *Sphinx*, dans la sciure de bois humide.

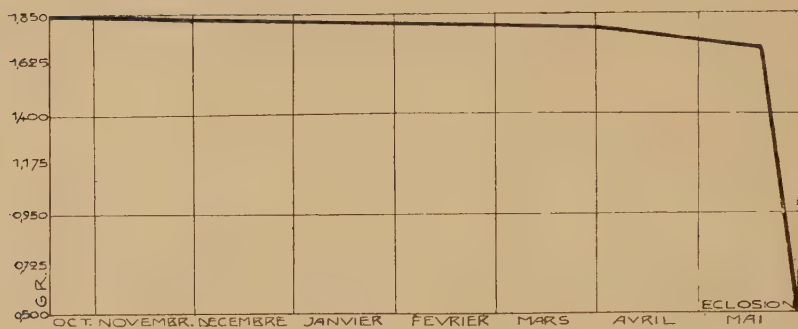
Paul Portier a montré que les *Sphinx* avaient une variation de poids extrêmement sensible à l'état hygrométrique du milieu ambiant. Pour que les variations de poids observées soient vraiment d'ordre physiologique, il faut que les animaux soient placés dans des conditions aussi semblables que possibles.

Les courbes donnent l'évolution du poids des chrysalides en fonction du temps ; leur examen montre une série d'inflexions traduisant les diminutions de poids relevées par des pesées successives : la dernière inflexion correspond à la dernière pesée de la chrysalide ; la fin de la courbe donne le poids du papillon au moment de l'éclosion.

Cette chute tient d'une part à l'expulsion du méconium et d'autre part au rejet de l'enveloppe chitineuse.

Quand la dernière pesée a lieu le jour même de l'éclosion la branche est verticale ; elle est oblique et d'autant plus oblique qu'il s'est écoulé plus de temps entre la dernière pesée et l'éclosion.

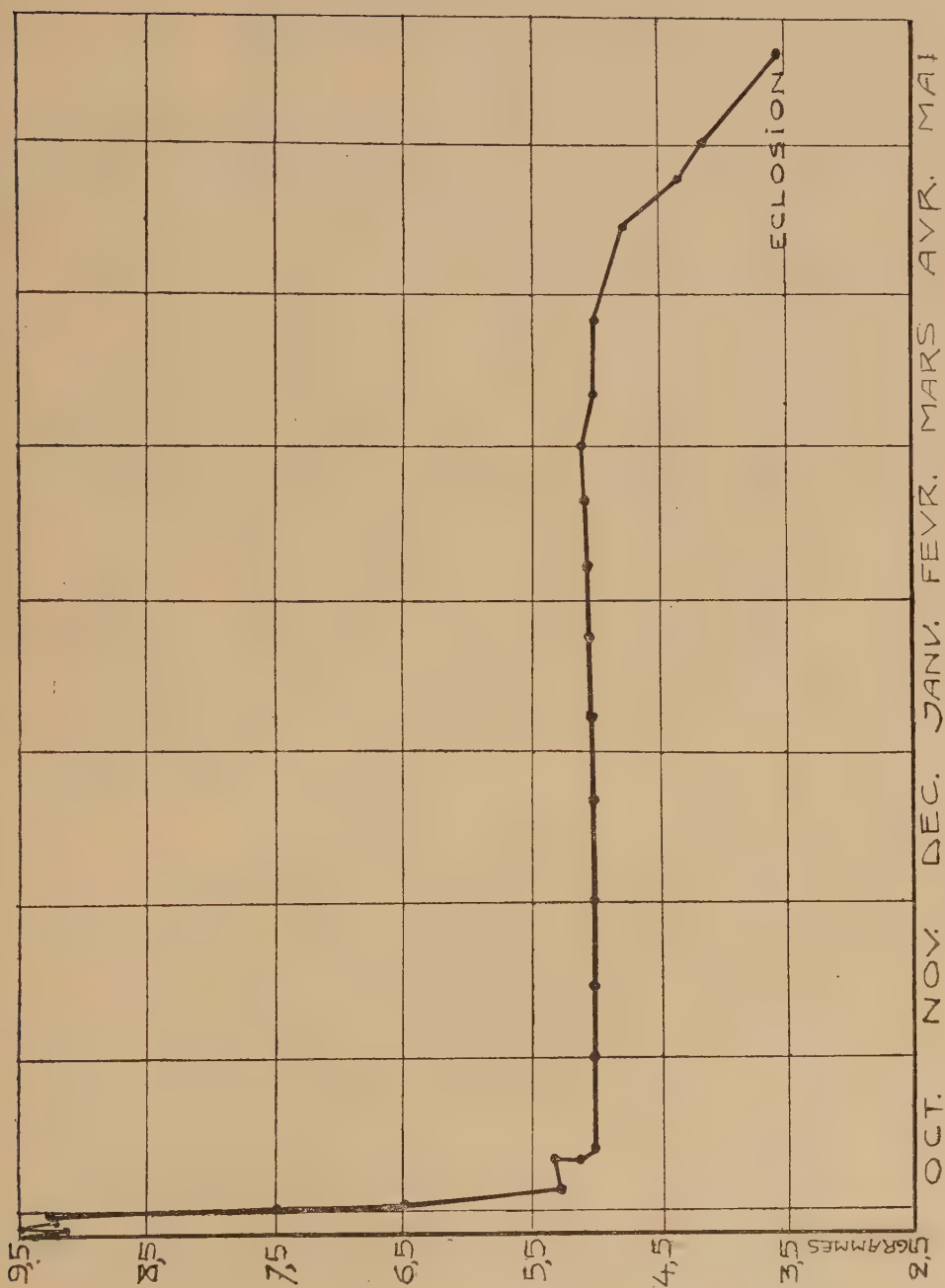
Sphinx Ligustri



SPHINX LIGUSTRI

Courbe n° 1. — Evolution pondérale de la nymphe de « *Sphinx Ligustri* »

Saturnia Pavonia



SATURNIA PAVONIA

Courbe n° 2. — Evolution pondérale de la nymphe de « *Saturnia pavonia* »

INTERPRÉTATION DES COURBES

La courbe de *Saturnia Pavonia* appartient au deuxième groupe dans la classification établie par P. Portier.

La période de nymphose est longue : elle dure environ huit mois. La diminution de poids est sensible dès la formation de la chrysalide, mais elle est très lente ; elle s'accroît pendant le mois qui précède l'éclosion et ensuite c'est la chute verticale.

La courbe d'évolution du *Sphinx Ligustri* est un peu différente. La diminution de poids est nulle pendant une longue période, environ 175 jours : une chrysalide de *Sphinx* pesant 5,084 grammes le 11 octobre, pèsera 5,120 grammes le 1^{er} mars ; elle a augmenté de 36 milligrammes en 140 jours. Ensuite vient la chute qui précède l'éclosion, période pendant laquelle la chrysalide se comporte comme celle des autres types.

Nous n'exposerons pas plus avant l'interprétation que l'on peut donner à l'allure de ces courbes : ceci a fait l'objet, comme nous l'avons déjà dit, d'un travail de P. Portier et de M^{lle} de Rorthays (1). Il suffit de rappeler que les Insectes en état de nymphose n'ont qu'apparence de vie latente, mais qu'en réalité la respiration demeure avec une intensité comparable dans les deux espèces nommées ci-dessus.

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 22 déc. 1928. Sur l'évolution pondérale des Chrysalides de Lépidoptères.

II. — TENEUR EN EAU

La détermination de la teneur en eau bien qu'étant une simple mesure physique demande néanmoins un certain nombre de précautions.

Mode opératoire.

Les larves, les chrysalides ou les insectes sont soigneusement pesés par double pesée dans une capsule tarée gardée dans un dessiccateur.

On coupe les animaux grossièrement et on les laisse 24 heures dans une étuve à 50°. Ensuite, on les porte dans l'étuve réglée 100°-110°, et après un nouveau séjour de 24 heures on laisse refroidir en dessiccateur et on pèse jusqu'à poids constant.

Afin d'obtenir des résultats comparables, il est nécessaire de passer par l'étuve à 50°, et de surveiller avec soin l'évaporation à 100°, afin d'éviter la carbonisation.

Nous avons dû faire un grand nombre de déterminations. Nous ne donnons ici que la moyenne des chiffres établis par mois de nymphose pour l'*Attacus Pernyi* et les autres espèces.

Teneur en eau chez la larve

Les chenilles ont une teneur en eau sensiblement constante pendant la durée de leur croissance. Elles suivent en cela la règle à peu près générale des êtres vivants : leurs organes et leurs tissus se développent régulièrement et il n'y a pas, *a priori*, de raisons spéciales pour que l'hydratation ne suive point la courbe régulière des constituants organiques. Cependant, si l'on compare les chiffres extrêmes — 90 0/0 et 83 0/0 — on y voit le signe d'une légère baisse de l'hydratation. Cette légère différence est due au fait que le rapport du poids sec au poids frais va augmentant, la larve accumulant dans ses tissus des substances de réserve — entre autres des graisses et du glycogène. Néanmoins la diminution est insignifiante et seule vaut la peine d'être notée la forte perte

d'eau qui se produit au moment de la crise de métamorphose et qui se traduit par une évaporation intense allant jusqu'à la condensation de nombreuses gouttelettes d'eau sur le dos de l'animal.

Teneur en eau chez la chrysalide

Continuant au deuxième stade de la vie des Lépidoptères, les dosages pratiqués à la période larvaire, nous trouvons que les résultats confirment ce que la logique pouvait nous faire prévoir : une constance remarquable de la teneur en eau.

Voici d'ailleurs quelques chiffres :

Epoque	TENEUR EN EAU D'ATTACUS PERNYI, CHRYSALIDE PENDANT LA NYMPHOSE			
	Poids frais	Poids sec	Teneur en eau	0/0
Octobre	3,882	0,853	2,969	83,9
Novembre	2,298	0,491	1,807	83
Décembre	2,472	0,496	1,976	81,8
Janvier	2,183	0,437	1,746	80,0
Février	2,930	0,629	2,301	78,6
Mars	2,650	0,634	2,026	77,6

Il ne faut pas cependant se contenter de lire par trop superficiellement les résultats ; sans doute, enclos dans sa gaine de chitine, n'absorbant ni ne rejetant rien, on ne peut que trouver normal l'invariabilité de l'hydratation de la chrysalide.

Mais ce « vase clos » respire, nous l'avons vu, et qui dit respiration, dit rejet de gaz carbonique et d'eau ; il faut donc que le système régulateur soit remarquable pour que la perte d'eau par vapeur soit compensée si rigoureusement par un apport minutieusement réglé et un emprunt au milieu humide où l'animal effectue sa nymphose.

Teneur en eau chez l'adulte

L'adulte à l'éclosion a une teneur en eau qui diffère peu de celle de la nymphe ; à peine un peu inférieure à ses débuts et cette infériorité a sa cause dans la déperdition aqueuse due aux premiers battements des ailes.

Ensuite, l'hydratation baisse rapidement jusqu'à atteindre 50 0/0 de la valeur initiale et l'examen du tableau ci-dessous, mieux que tout commentaire va nous en expliquer les causes.

Sexe et époque	Poids frais	Poids sec	Teneur en eau	0/0
Mâle à la naissance.....	0,147	0,129	0,318	71
Après 2 jours	0,329	0,139	0,090	59
Après 4 jours et fécondation	0,174	0,096	0,079	45
Femelle à la naissance....	0,868	0,226	0,642	71

Trois activités essentielles de l'Imago interviennent pour abaisser le rapport de l'eau au poids de l'animal ; ce sont, par ordre d'importance :

- 1° Le rejet du méconium ;
- 2° La disparition du liquide fécondant ;
- 3° L'évaporation provoquée par le battement des ailes.

En résumé, l'insecte suit sur ce chapitre, tout au long de sa triple vie larvaire, nymphale et adulte, les lois générales qui régissent les êtres vivants et les variations qu'on en peut observer sont de celles qu'on observerait si un animal quelconque était régi par des conditions d'existence analogue.

III. — ANALYSES DES CENDRES CHEZ LES INSECTES

L'analyse des cendres des insectes a été faite très minutieusement par un grand nombre d'auteurs.

Nous n'avons pas cru devoir refaire ce travail après les résultats antérieurs. Mais nous tenons à faire remarquer quelques particularités observées chez les lépidoptères et que nous relevons dans la littérature.

1° *Le Potassium* tient une grande place dans la composition des cendres de Bombyx Mori et des lépidoptères en général. Latter, en 1892-1897, a montré l'émission de KOH par Dicranula Vinula pour dissoudre le cocon avant l'éclosion.

Bunge, en 1874, dans ses déterminations spéciales du potassium et du sodium, dans les cendres de Bombyx Mori a trouvé dans de nombreux cas de 50 à 60 fois plus de KOH que de NaOH.

Le potassium est excrété en grande quantité par les Insectes sous forme de silicates, de sulfates et de phosphates.

2° *Le Sodium* joue le même rôle que le potassium, mais existe en moins grande quantité.

3° *Le Phosphore* occupe un taux très élevé dans les cendres : Péligot signale jusqu'à 53 0/0 de phosphore dans les cendres des œufs de ver à soie.

IV. — LA TOXICITÉ DU SANG DES INSECTES

Hollande, en 1906, a fait une série d'expériences pour mettre en évidence la toxicité du sang de quelques insectes.

Il opérait de la façon suivante :

Il saignait l'animal et recueillait le sang dans du sérum physiologique jusqu'à atteindre la dilution voulue. Puis il pratiquait une injection de ce liquide dans le péritoine de la grenouille. Quelques heures après, il observait des troubles assez violents, notamment une paralysie totale des membres inférieurs. Pour obtenir ces résultats, il suffisait d'injecter *deux milligrammes* de sang d'insecte.

Le sang, à l'analyse, ne contenait pas de cantharidine, mais une substance voisine de la choline.

Nous avons repris ces expériences avec le sang des larves que nous étudions, puis avec le milieu intérieur des chrysalides, dont les tissus étaient en histolyse.

Nous pensions que la teneur en acides aminés pouvait avoir des effets nocifs sur d'autres animaux et peut-être déceler par ailleurs une autre substance toxique libérée dans la dégradation des tissus.

Nous avons pratiqué, à des grenouilles, puis à de jeunes souris blanches, des injections de doses croissantes d'hémolymphe diluée dans 1 cmc. de solution de Ringer ; les quantités de sang variaient de 0,1 cmc. à 0,5 cmc.

Dans aucun cas nous n'avons observé de troubles dus à la toxicité.

V. - LES PHÉNOMÈNES RESPIRATOIRES PENDANT LA NYMPHOSE

Nous n'avons pas l'intention d'étudier ici la respiration des insectes métaboles, ni d'entrer dans le détail historique des travaux qui touchent à la respiration des Lépidoptères.

Toutefois, il nous paraît indispensable dans ces recherches qui essaient de mettre en évidence l'importance du travail chimique qui s'opère pendant la nymphose, de montrer comment se traduisent ces réactions dans la respiration.

La respiration, considérée par l'absorption d'oxygène et le rejet du gaz carbonique, est une grande fonction, diront les physiologistes. Et pourtant, dans le cas particulier de la métamorphose, peut-on être assuré que l'allure de la consommation d'oxygène rapportée en kilogramme-heure est capable de donner une explication, ou même un éclaircissement sur la physiologie de la nymphe.

Que reste-t-il de la grande fonction schématisée par LaVoisier, quand on pousse un peu plus avant l'étude des phénomènes d'analyse et de synthèse ?

Que se passe-t-il au niveau cellulaire ?

Une série d'actions diastasiques dont les échanges respiratoires ne nous donnent qu'un résultat infiniment grossier. Nous ne pouvons pas pénétrer par l'étude de la respiration dans la vie intime de la cellule et comme l'exprimait J. Duclaux : « Nous ne pouvons pas plus juger ce qui se passe à l'intérieur des cellules parce qu'elles laissent échapper de gaz à l'extérieur que deviner le mécanisme d'une machine à vapeur en étudiant ce qu'elle envoie dans sa cheminée. »

Les phénomènes d'ordre respiratoire et circulatoire troublés pendant cette période s'expliqueront mieux quand les phénomènes de vie cellulaire seront mieux connus.

La méthode biochimique que nous avons employée au cours de ce travail est loin d'être satisfaisante. Quand on pourra étudier la vie chimique des lignées cellulaires, croissant au sein des tissus nécrosés, on pénétrera plus avant dans le mystère de la métamorphose.

Rappelons brièvement l'état de nos connaissances actuelles sur l'allure générale de la respiration au cours du cycle de la métamorphose.

Dans son travail consacré à la métamorphose du ver à soie, Bataillon étudie la respiration de ce dernier sous trois formes : « larves, nymphes, papillons », et il arrive au résultat de Paul Bert, bien antérieurement. « L'activité respiratoire diminue notablement au début de la nymphose et se relève à l'éclosion. Dès que le cocon est formé, la quantité d'acide carbonique s'abaisse progressivement. Chez la chrysalide, il y a plus d'oxygène consommé que de CO_2 produit ; le coefficient respiratoire varie chaque jour. Quand le papillon est sur le point de sortir, la consommation d'oxygène n'est jamais aussi forte que chez la chenille au début du filage. La puissance respiratoire de l'adulte va diminuant. »

Paul Bert, cherchant à donner une explication à ces oscillations respiratoires, montre avec l'aide de Viallanes, qu'elles ne paraissent pas avoir de rapports avec l'évolution organique.

Bataillon, au contraire, s'appuyant sur ces résultats, élabore une théorie asphyxique de la métamorphose.

Mais, s'il y a pendant la nymphose accumulation de CO_2 dans le milieu intérieur, peut-on dire qu'il y ait asphyxie ?

Comme le fait remarquer si justement Pérez (1) dans son « Etude des métamorphoses » : « A chaque instant de la nymphose, la chrysalide est un organisme physiologiquement spécial, caractérisé par un coefficient respiratoire propre et par une certaine teneur de son milieu interne en CO_2 . On peut simplement dire qu'à deux moments différents, elle respire de façon différente. »

Sosnowski (1902), Weiland (1906), Tangl (1909) ont fait des expériences sur les chrysalides de *Musca vomitoria*, *Lucilia coesar*, *Ophyra cadaverina*. Ils ont trouvé que les échan-

(1) Ch. Pérez : *Etudes des métamorphoses*, p. 391.

ges respiratoires varient au cours de la nymphose, avec production de CO_2 , élevée au début, qui baisse au bout de quelques jours pour s'élever à nouveau.

Batelli et Stern expérimentent sur le ver à soie.

Voici le résultat pour des animaux pris dans des conditions physiologiques normales à la température de $20^\circ\text{--}22^\circ$.

Moyennes de nombreux résultats :

	Coefficient respiratoire	O_2 p. kg.-heure
Larve	0.81	1300
Chrysalides	0.65	260
Imagos	0.74	3100

Krogh, en 1914, étudie les chrysalides de *Tenebrio Molitor*, au moment où les muscles sont en pleine histolyse et où les échanges respiratoires ont atteint leur minimum. Les résultats sont extrêmement constants. La courbe pendant la durée des phénomènes d'histolyse est presque un plateau. Enfin, les résultats obtenus par Duval et nous-mêmes (*Recherches inédites sur des chrysalides de Sphinx Ligustri et de Saturnia Pavonia*) montrent que pendant toute la nymphose le coefficient respiratoire est très légèrement inférieur à 1 et que la consommation d'oxygène est très faible.

Moyennes de nos résultats obtenus entre décembre et février : les chrysalides étaient maintenues à la température de 18° :

	Coefficient respiratoire	O_2 p. kg.-heure
	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	
<i>Sphinx ligustri</i>	$= 0.92$	0,0124 cme.
	$\frac{\text{CO}}{\text{O}_2}$	
<i>Saturnia pavonia</i>	$= 0.85$	0,016 cme.

De plus, les travaux récents, *Recherches inédites de Mademoiselle Raffy*, qui s'étendent à beaucoup d'invertébrés, montrent combien la consommation d'oxygène chez les papillons est grande, si on la compare à d'autres espèces comme l'escargot, le lumbric qui atteignent à peine 20 cme d'oxygène par kilogr.-heure.

Voici résumé quelques-uns des chiffres que l'auteur a bien voulu nous communiquer :

Espèces et Sexe	CO ² par kg-h.	O ² par kg-h.	—CO ²
			R ——— O ²
Bombyx mori (femelle)	136.4	193	0,704
Bombyx mori (femelle)	130	142	0,915
Bombyx mori (mâle)	245	320	0,763
Bombyx mori (mâle)	325	614	0,529
Sphinx elpénor (mâle).....	754	882	0.850
Saturnia Pyri (mâle)	1339	1617	0.820

L'auteur a suivi la consommation d'oxygène d'un *Sphinx convolvuli* du jour de sa naissance à sa mort.

Espèce : *Sphinx Convovuli* mâle.

Date	CO ² par kg-h.	O ² par kg-h.	CO ²
			R ——— O ²
31 octobre	686	671	1,022
3 novembre	276	471	0,585
4 novembre	654	422	1,549
5 novembre	442	546	0,809
6 novembre	392	400	0,730

Ces chiffres montrent clairement combien l'activité respiratoire d'un imago est grande, et comment les consommations d'oxygène et le rejet d'acide carbonique baisse depuis l'éclosion jusqu'à la mort.

Tous ces chiffres ont été calculés pour la température de 20°. Ces résultats ont été obtenus par la méthode d'analyse de Laulanié-Plantefol, avec un appareil modifié par P. Portier et Duval pour l'analyse de petites quantités de gaz.

Les animaux étaient placés dans une ampoule hermétiquement close dans des conditions de pression, de température et d'humidité connues. C'était, par conséquent, un milieu confiné ; mais les sujets en expérience restaient un temps très court, afin que la quantité d'oxygène absorbée ne dépasse pas 30 0/0 d'oxygène total.

Si la méthode est critiquable en ce qui concerne la raison que nous venons de donner, elle présente l'avantage d'opérer dans des conditions parfaitement connues, établies et suivies, et par cela même garanties d'une plus grande précision que lorsque l'on place les animaux dans une circulation d'air.

Il ressort de tous ces travaux, que le travail chimique intense qui s'accomplit au sein de la nymphe, n'en laisse rien paraître dans la respiration.

La consommation d'oxygène est faible chez la nymphe, la quantité de gaz carbonique encore plus faible, comme dans une vie ralentie.

C'est cette abondance du gaz carbonique qui avait fait expliquer la métamorphose par asphyxie ; nous croyons, au contraire, que si la quantité de gaz carbonique augmente au sein de la nymphe, c'est parce que sa présence doit faciliter le travail de genèse qui va se produire vers la fin de la vie larvaire.

Les expériences de Giard ont montré que la métamorphose des larves de Botrylles était plus rapide au milieu confiné, résultat qui s'est vérifié souvent dans la série animale, et nous ne pouvons trouver de meilleures conclusions à ces lignes que de rappeler les paroles de notre maître P. Portier : « Là où l'édification de nouveaux tissus a lieu, là où, par conséquent, les phénomènes de synthèse l'emportent sur ceux d'analyse, nous trouvons du gaz carbonique sous une concentration relativement élevée. »

Si donc les résultats cités traduisent admirablement la grande activité de l'adulte à la vie si courte, par ses consommations d'oxygène prodigieuses, par contre, le métabolisme nymphal paraît, au contraire, extrêmement ralenti.

On connaît l'importance des phénomènes d'oxydation et de réduction au niveau cellulaire dans les travaux de synthèse. On peut donc penser que pendant l'élaboration chimique du futur imago ces oxydo-réductions sont fort importantes. Nous n'avons pu mettre assez tôt au point les méthodes électro-métriques de mesure du rH cellulaire, mais nous avons essayé de mettre en évidence et de suivre l'un des transporteurs d'hydrogène qui paraît jouer un rôle indispensable comme terme intermédiaire dans les oxydo-réductions, nous voulons dire le « glutathion ».

On sait qu'un autre transporteur d'hydrogène, le cytochrome, est abondant chez les insectes.

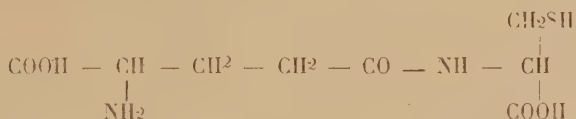
VI. — LE GLUTATHION

Historique.

C'est de Rey Pailhade qui, dès 1888, établit l'existence d'un composé sulfuré oxydo-réducteur qu'il appelle « Philothion ».

A la suite des travaux de Heffter et de Mayerhoff, Hopkins, en 1921, montra l'existence à l'état normal dans les tissus de l'homme et des animaux d'un composé sulfureux qui paraît jouer un rôle important dans les phénomènes d'oxydo-réduction. En 1929, ce même auteur peut l'isoler et établir que c'est une tripeptide de glycocolle, d'acide glutamique et de cystéine, qui existe alternativement sous la forme réduite et sous la forme oxydée ; il appela ce composé « Glutathion ».

En voici la formule :



Cette action réversible est d'une grande importance dans les fonctions physiologiques essentielles, et peut être considérée comme un catalyseur cellulaire thermo-stable.

Depuis les nombreux travaux en Angleterre de Hopkins, Dixon, Tunnicliffe, sur les propriétés physiologiques de ce composé, en France, Blanchetière et Binet ont montré la richesse en glutathion de certaines glandes comme les surrénales et le foie, et le rôle que joue celui-ci dans l'oxydation de certains protides et glycérides à acides gras non saturés.

Ils ont dosé la glutathion dans la série animale et d'une manière générale le résultat montre que chez les invertébrés les teneurs d'animaux entiers oscillent entre 54 et 110 milligrammes pour 100 grammes de tissus frais.

M^{me} Randoin, Simonnet et Fabre montrent que dans les cas d'avitaminose B, les glucides ne sont pas utilisés par suite d'une impossibilité à réaliser normalement la combustion du glucose ; cette incapacité d'oxydation des tissus pa-

raît due à une forte diminution de leur teneur en glutathion.

Il résulte de tous ces travaux, que ce tripeptide sulfuré est un remarquable mobilisateur d'oxygène et par conséquent joue un rôle dans les transformations cellulaires, c'est-à-dire dans les phénomènes vitaux essentiels.

C'est pourquoi il nous a paru intéressant d'établir et de suivre la teneur en glutathion des larves, des nymphes et des adultes au cours de leur évolution.

TECHNIQUE EMPLOYÉE

La méthode de Tunnicliffe, utilisant, comme l'ont indiqué Blanchetière et Binet, le réactif de Tromsdorff, donne un résultat qui peut être entaché d'une erreur par excès étant donné que l'iode peut oxyder dans les tissus d'autres groupements que les composés sulfhydrilés.

Nous avons donc employé parallèlement la réaction au nitroprussiate.

Voici comment nous opérions :

Un poids connu de tissus (chrysalide ou chenille) est broyé rapidement, la pulpe aussi fine que possible est traitée par un égal volume d'acide trichloracétique à 10 0/0 ; nous n'avons pas employé pour le broyage de sable lavé, comme l'ont indiqué M^{me} Randoïn et Fabre : en effet, deux dosages portant sur un même poids de tissus accusent une différence de plus de 20 0/0, l'échantillon traité par le sable donnant les résultats inférieurs. On filtre la pulpe à la trompe et le résidu est repris par un volume connu d'acide trichloracétique à 10 0/0. Après deux ou trois épuisements on titre les solutions claires avec une solution centinormale d'iode préparée extemporanément. La fin du titrage est donnée par la teinte bleue stable de la liqueur en présence de réactif de Tromsdorff : 1 cmc. de la solution N/100 d'iode correspond à 2,5 milligrammes de glutathion réduit. On rapporte à 100 grammes de tissus frais.

Réaction au nitroprussiate. — Pour faire la réaction on prépare extemporanément une solution saturée de nitroprussiate de soude ; on prélève avec une fine pipette 0,2 cmc. de la liqueur à titrer à laquelle on ajoute 0,1 cmc. à 0,2 cmc. de la solution de nitroprussiate, on agite et on fait arriver à l'aide d'une pipette capillaire un peu d'ammoniaque pure à la surface : au bout de quelques secondes il se forme à la surface de séparation un anneau rose qui est d'autant plus intense que la teneur en glutathion est plus forte.

On ajoute au filtrat total l'iode goutte à goutte et l'on fait une série de réactions au nitroprussiate jusqu'à disparition de l'anneau. Le nombre de cmc. d'iode utilisés se désigne par « *G* ». On a coutume de verser l'iode jusqu'à teinte bleue persistante : on obtient un second nombre de cmc. « *G'* », (*G'* étant toujours plus grand que *G*).

RECHERCHES PERSONNELLES

Glutathion chez les larves

Le glutathion augmente au cours de la croissance et surtout dans la première partie. Les tissus des larves se montrent riches de ce dipeptide.

Nous avons pratiqué nos dosages sur la larve d'*Attacus Pernyi*, débarrassée de son contenu digestif. A côté de ces déterminations sur l'animal entier, nous avons essayé d'en pratiquer quelques-unes isolées sur l'hémolymphé ; mais la teneur de ce liquide en glutathion nous a paru très faible et il nous aurait fallu sacrifier un trop grand nombre d'animaux pour obtenir un résultat digne d'être noté. Néanmoins, cette simple remarque d'ordre qualitatif fait apparaître une grande différence de potentiel d'oxydo-réduction entre le sang et les tissus. Chez les jeunes larves en voie de croissance, ce phénomène serait en accord avec les résultats publiés récemment et portant sur les tissus de jeunes animaux supérieurs : lapins et souris blanches.

Voici nos résultats acquis pour trois époques de la croissance de la larve : *Attacus Pernyi* :

	Poids	Glutathion en mmgr.	% de tissus frais	Glutathion en mmgr.	% de tiss.
Jeunes	4,500	8,10	1,80	6,84	152
Agées	6,750	13,55	2,00	11,89	176
Adultes	8,400	15,96	1,90	11,34	135
		(A)		(B)	

(A) Dosage par le procédé à l'iode.

(B) Dosage avec témoin au nitroprussiate.

Glutathion chez la nymphe

Nos dosages ont porté sur trois espèces de nymphes : *Attacus Pernyi*, *Saturnia Pyri* et *Sphinx ligustri*.

Le taux assez élevé de glutathion chez la larve baisse brusquement au moment de la métamorphose et, au cours de la nymphose, celui-ci reste relativement bas, n'accusant que des variations de peu d'amplitude.

C'est là un résultat un peu imprévu. On a, en effet, coutume à juste titre de faire un rapprochement entre la quantité élevée du glutathion dans les tissus et la croissance ou le développement de ceux-ci. Et, nous l'avons vu, les variations chez la larve semblent justifier ce parallèle.

Or, chez la nymphe, malgré le bouleversement formidable de la matière vivante qui va s'opérer en dépit de la genèse du corps de l'adulte, nous trouvons le G.S-H. en quantité infime comme dans le cas d'une vie ralentie.

Le tableau ci-dessous résume nos résultats pour les mois de nymphose d'octobre à mars.

	Milligrammes de glutathion pour 100 grammes de tissus frais					
	Oct.	Nov.	Déc.	Janv.	Fév.	Mars
<i>Attacus Pernyi</i>	95	90	88	86	80	78
<i>Saturnia Pyri</i>	153	92	88	85	83	80
<i>Sphynx Ligustri</i>	112	95	92	87	85	82

Glutathion chez l'imago

Le glutathion chez l'adulte n'occupe pas une teneur élevée. Quand il naît, la croissance de ses tissus est achevée, et

il consomme seulement les quelques réserves dont il disposé avant sa mort.

	en milligrammes de glutathion pour 100 gr. de tissus frais	
	Mâle	Femelle
Attacus Pernyi	110	92
Saturnia Pyri	98	87
Sphinx ligustri	105	91

Le mâle a une teneur légèrement supérieure à celle de la femelle. La différence de poids entre l'adulte et la nymphe explique l'élévation apparente du glutathion chez l'imago.

En résumé, les résultats fournis par cette étude du G.S-H. au cours de la métamorphose complète, s'ils satisfont aux thèses courantes pour ce qui est de la vie larvaire ne laissent pas de nous paraître surprenants quand il s'agit de la période nymphale.

Nous avons vu dans le paragraphe qui traite des phénomènes respiratoires que les modifications du coefficient $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$

tendaient à faire considérer la chrysalide comme un animal en état de vie ralentie et ce, en dépit du travail formidable accompli par l'insecte à l'abri de sa gaine de chitine ; mais nous avons pensé que nous ne pouvions percevoir sous cette forme « respiratoire » que la résultante de phénomènes complexes mais superficiels. Il semble maintenant que le glutathion, véritable « baromètre de l'activité cellulaire », nous permet de confirmer la thèse que la respiration nous avait fait établir.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(Généralités : respiration)

- BERT (P.). — Sur la respiration du bombyx à différents âges. *C. R. Soc. Biol.* 1885.
 FREDERICQ (L.). — Sur le sang des insectes. *Bull. de l'Académie royale de Belgique*. Série RB I, 1881, p. 487-490.
 — Notes sur le sang et la respiration du ver à soie. *Travaux de Laboratoire de Léon Frédéricq*, V, 1895, p. 196.

- GEROULD (D.-H.). — History of the discovery of periodic reversal of heart beat in insects. *Biol. Bulletin*, vol. 56, n° 3, 1929.
- KROGH. — On the rate of développement and CO₂ production of chrysalids of *Tenebrio Molitor* at different temperatures. *Zeitsch. f. All. Physiol.*, 16, 178-190.
- PORTIER (P.) et DE RORTHAYS (R.). — Sur l'évolution pondérale des chrysalides de lépidoptères. *C. R. Soc. Biol.*, 1928, n° 38, t. XCIX, p. 1954.
- QUAJAT. — Recherches sur les produits de respiration du ver à soie. *Arch. Soc. Biol.*, 27, 1897, p. 376, et 1893, p. 274.
- SOSNOWSKI. — Contribution à l'étude du développement et de la physiologie des mouches. *Bull. de l'Académie des Sciences de Cracovie*, 1902, n° 568.
- BLANCHETIÈRE et BINET. — Le glutathion dans le sang. *C. R. Soc. Biol.*, 1926, t. XCV, p. 1098; 1926, t. XCIV, p. 494; 1926, t. , p. 558; 1926, t. , p. 621; 1927, p. 1049.
- BLANCHETIERRE, BINET et MELON. — Sur le dosage du glutathion. *C. R. Soc. Biol.*, 1927, p. 242.
- Les catalyseurs sulfurés. *Journal de Pathol. génér.*, mars 1929, XXVII, n° 1.
- FABRE (René et SIMONNET. — Contribution à l'étude physiologique du glutathion par la méthode de perfusion. *C. R. Ac. des Sc.*, 19 déc. 1927, p. 1528.
- FINK. — A micromethod for estimating the relative distribution of glutathion in insects. *Science*, 65, 143-145.
- HOPKINS. — Les mécanismes de l'oxydation dans l'organisme vivant. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, oct. 1923, n° 8, t. V.
- HOPKINS et DIXON. — On glutathion. A thermostable oxydation reduction system. *Journ. of Biol. Chem.*, 1922, L. IV, p. 527.
- On an autoxydable constituent of the cell. *Bio chemical Journal*, 1921, 15, 286; 1925, 19, 787.
- On the isolation of glutathion. *J. Biol. Chem.* 1927, t. LXXII, p. 185.
- HUNTER-EAGLES. — Glutathione. *J. Biol. Chem.* 1927, t. LXXII, p. 133.
- JOHNSON et VOEGTLIN. — On the preparation and properties of pure glutathion. *Journal of Biol. Chem.* 1927, t. LXXV, 703.
- PARAT (Maurice). — Contribution à l'étude morphologique et physiologique du cytoplasme. *Arch. d'Anatomie microscopique*, 1928, XXIV, fasc. 2-3.
- JOYET et LAVERGNE. — Sur le rapport entre le glutathion et le potentiel d'oxydo-réduction intracellulaire. *C. R. Soc. Biol.*, 18 juin 1927, XVCII, p. 140.
- REY-PAILHADE (DE). — *C. R. Ac. des Sc.*, 11 juin 1888, p. 1683; 2 juillet 1888, p. 43.
- TINKS. — Micromethod of dosage of glutathion in insects. *Science*, 143-145, février 1927.
- TUNNICLIFFE. — Dosage du glutathion dans les tissus. *Bioch. Journal*, 1925, t. XXIX, p. 191.
- Relation between tissues and the axydised dipeptide. *Biochemical Journal*, A 1925, t. XIX, p. 144.
- TUNNICLIFFE and DIXON. — *Proc. Roy. Soc.*, 1923, t. XCIV, p. 266-297.
- THOMPSON et WOETGLIN (J.-W.). — Glutathione content of normal animals. *Journal of Biol. Chem.*, 1926, LXX, 793.
- WURMSER. — Les oxydations en biologie d'après Hopkins. *Publications*, Paris, 1927, fasc. 6, I, 54.

CHAPITRE SECOND

PHASE PLASTIQUE

GÉNÉRALITÉS

La dégradation des matières protéiques au cours du remaniement nymphal est l'un des phénomènes les plus curieux que présente la biochimie des espèces animales. Nous assistons, pendant toute la nymphose, à une véritable digestion de protides spécifiques (tissus de la larve) et à la reconstruction de protides nouvelles (tissus de l'imago).

Comment s'effectue ce travail d'analyse et de synthèse, et à partir de quels termes de la dégradation de la molécule protéique, verrons-nous, au sein de la bouillie nymphale, se former les tissus du futur papillon ?

Les dosages que nous avons effectués, nous ont permis de suivre les phénomènes d'histolyse qui s'étendent depuis les premiers jours de la crise de métamorphose, c'est-à-dire, le début du mois d'août, jusqu'à la fin janvier, pour les espèces que nous avons étudiées. Les phénomènes d'histogénèse, beaucoup plus rapides, s'effectuent en l'espace de deux mois, pour donner naissance à l'imago qui sort de son enveloppe nymphale vers le mois d'avril.

La méthode chimique globale nous amène aux conclusions suivantes :

Que le travail de démolition des protides larvaires est un travail lent et progressif, alors que le travail de reconstruction est rapide, dès que le contenu nymphal a élaboré les éléments nécessaires à l'édification des tissus imaginaires.

Nous n'oublions pas que les disques imaginaires existent depuis l'éclosion de la larve, qu'ils ont fait une pre-

mière tentative de croissance lors de la crise de métamorphose, mais pour que les lignées cellulaires spécifiques prennent naissance, il faut que les matériaux de la construction soient libérés de l'édifice antérieur qui doit disparaître. Nous verrons donc, tour à tour, les grosses molécules protéiques se scinder, s'hydrolyser en des chaînes plus courtes pour arriver au stade si curieux d'acides aminés, ces « pierres des protides ».

La dégradation n'est pas poussée plus avant. Nous n'avons pas pu mettre en évidence dans les chrysalides une augmentation du taux de l'urée ni de l'ammoniaque.

C'est à partir de ces acides aminés que les chaînes se soudant entre elles reconstituent les protides nouvelles. Il se passe là une véritable synthèse de la matière vivante, synthèse qui s'opère en vase clos, à la température ordinaire, sans l'intervention d'autres éléments que les tissus démolis préexistants, et comme source d'énergie la combustion des lipides et des glucides, précieusement mis en réserve pendant la vie larvaire.

Il n'est pas, à notre connaissance, un exemple aussi frappant, d'animal réalisant tantôt en une période très courte (Bombyx) ou au contraire très longue (Saturnides, Sphinx) la synthèse des matières protéiques.

Et, tout d'abord, il nous paraît nécessaire pour comprendre tout le merveilleux mécanisme des réactions qui vont se succéder au sein de la nymphe, de rappeler les notions modernes des auteurs classiques, sur la constitution des protides.

Constitution des Protides

La molécule protéique complexe est formée de longues chaînes de carbone portant des groupements aminés, et reliées entre elles suivant des modes de liaison bien connus.

L'hydrolyse de la molécule la scinde successivement en un nombre de chaînes de plus en plus courtes, polypeptides, albumoses, peptones, acides aminés.

On sait, depuis les remarquables travaux d'Emile Fischer, qu'une hydrolyse acide de la molécule permet d'isoler dix-sept acides aminés constitutifs. A partir de ces travaux, on a essayé de reconstituer, sinon des protides, au moins des chaînes polypeptidiques avec ces acides aminés. Schützenberger utilisait, comme agent d'hydrolyse, l'action de la baryte en vase clos à 200°.

Kossel employait le SO_4H^2 à 25 0/0 bouillant, puis l'acide chlorhydrique, et enfin l'acide fluorhydrique.

Une hydrolyse est une démolition de la molécule par des processus brutaux, artificiels, qui donne un grand nombre de très petites molécules (hydrogène, ammoniac) et un certain nombre de fragments plus volumineux, les acides aminés.

Quand on veut condenser les acides aminés entre eux, pour reformer une grosse molécule protéique, il faut que le groupement acide d'une molécule d'acide aminé, s'unisse au groupe basique d'une autre molécule, la soudure se produisant avec élimination d'eau, suivant le type classique :



Glycylglycine

Parmi les nombreuses expériences qui ont essayé de réaliser cette condensation, l'une d'entre elles paraît se rapprocher du mécanisme dont se sert la cellule vivante pour effectuer cette synthèse. C'est l'expérience de Maillard que nous rappellerons brièvement :

Maillard faisait agir du glycérol à haute température sur des acides aminés à 170° ; le glycérol se combine aux amino-acides. Il se produit une éthérification glycérique de ces acides avec élimination d'eau.

Ces glycérides sont très instables. Leurs molécules se brisent, libèrent d'une part le glycérol, et, d'autre part, les tronçons d'acides aminés qui se combinent alors entre eux pour produire des peptides.

Cette expérience permet l'hypothèse la plus vraisemblable, lorsqu'on veut expliquer cette condensation dans les tissus vivants.

Il suffit pour que la réaction se fasse, *in vitro*, à la température ordinaire, que la cellule fasse intervenir de ces accélérateurs, tels que sont les diastases.

Chez les insectes, dans les processus d'histogenèse, nous assistons à la condensation des acides aminés par la cellule vivante. C'est pourquoi nous avons essayé de mettre en évidence, dans une autre partie de notre travail, les ferments qui concourent à réaliser cette synthèse.

RÉCHERCHES PERSONNELLES

ÉTUDE DES PROTIDES ET DE LEURS CONSTITUANTS

Pour l'exposé de notre travail sur les protides des Lépidoptères à longues métamorphoses, nous ne suivrons pas l'ordre chronologique de nos dosages. C'est, en effet, après la mise en évidence avec P. Portier et M. Duval, d'une forte proportion d'acides aminés libres dans le sang de quelques insectes que nous avons étendu nos recherches, à l'étude de leurs variations au cours de la nymphose, et à la recherche d'autres constituants importants des matières protéiques.

Nous suivrons donc l'ordre suivant :

1° *Teneur en azote total*, de la chenille, de la nymphe, pendant son évolution, de l'imago ;

2° *Teneur en azote non protéique*, des différents états de l'insecte. Sa variation au cours de la nymphose ;

3° *Les peptones* : leur date d'apparition ; leurs variations ;

4° *Les acides aminés*. Variations des acides (mono-amminés, di-amminés).

5° *L'acide urique. L'urée, l'ammoniaque, la créatinine*.

6° Etude d'un composant important des matières protéiques. *Le phosphore*, sa variation.

Historique. — L'étude des protides et de leurs mutations au cours du cycle des métamorphoses n'a pas fait l'objet d'une étude particulière.

Nous citerons le travail de Vaney et Maignon (1904-1905) sur l'*Etude physiologique du Ver à Soie*, qui comporte le dosage des albumines solubles.

Ils utilisent la technique d'Armand Gautier : après broyage dans l'eau distillée, on abandonne le mélange pendant 24 heures dans un endroit frais. On filtre et on ajoute à la solution une égale quantité de sulfate de soude. On coagule les albumines par la chaleur : le coagulum est lavé à l'eau puis à l'alcool et à l'éther ; on sèche à l'étuve et l'on pèse.

Les auteurs arrivent aux conclusions suivantes :

1° Les chrysalides femelles sont beaucoup plus riches en albumines solubles que les chrysalides mâles ;

2° Au moment de l'éclosion des papillons, les femelles consomment une forte proportion de ces albumines et la différence avec les mâles n'est plus sensible ;

3° Il y a un accroissement notable des albumines solubles au moment de la « chrysalidation » et celles-ci vont diminuant jusqu'à l'éclosion.

Sept années plus tard, en 1912, Inouye est à citer parmi les auteurs qui se sont occupés de la question.

Enfin, plus récemment encore sont à mentionner les travaux de Rudolph (1926-1927).

Voici les résultats auxquels ces auteurs sont arrivés :

a) L'œuf du Bombyx Mori a une teneur en azote total voisine de 13 0/0 du poids sec ;

b) Quand la larve croît, l'azote n'augmente pas proportionnellement à l'accroissement de poids ;

c) Au début de la métamorphose les substances semblent augmenter ;

d) L'adulte a une teneur plus élevée que la nymphe.

Heller a fait en 1925-1926 une comparaison fort intéressante sur les larves de deux espèces de lépidoptères différents : le Bombyx mori et le Deiphila euphorbiae ; l'un possédant un cocon qui donne à l'hydrolyse de nombreux acides aminés et l'autre se transformant en pupe sans cocon.

Nous croyons intéressant de donner ici ces résultats :

	Bombyx mori	Deiphila Euphorbiae
Avant chrysalidation	A) 63 % B) 14 %	A) 19 % B) 42 %
Chrysalides	A) 9 % B) 23 %	A) 32 % B) 5 %
Papillons à la naissance.	A) 29 % B) 63 %	A) 50 % B) 52 %
Papillons après 5 jours..		A) 31 % B) 14 %

A représente la teneur en azote.

B représente la teneur en graisses.

On voit sans explication particulière que le métabolisme des graisses et des protides est tout différent chez deux espèces du même embranchement zoologique, mais dont les temps de nymphose sont très différents.

L'alimentation des Lépidoptères phytophages est peu riche en protéides et pourtant l'analyse de leurs tissus montre qu'ils en renferment une forte proportion. Loeb, en 1915, se posant cette question, a fait une série d'expériences tendant à découvrir la source des composés azotés utilisés pour le développement de l'Insecte parfait. Il opéra sur une mouche « *Drosophila Mélanogaster* ». Il élève des larves sur une solution contenant des quantités connues de sucre, de sels minéraux, de deux acides aminés et des sels ammoniacaux.

Il résulte de ces expériences que les larves utilisent la totalité des acides aminés et des sels ammoniacaux mis à leur disposition : elles auraient un pouvoir de synthèse égal à celui des bactéries. D'ailleurs, il semble que les micro-organismes symbiotes interviennent dans ces synthèses : si les animaux sont élevés aseptiquement, leur pouvoir synthétique est notablement diminué.

Quelques auteurs, sans d'ailleurs mettre en évidence la présence d'acides aminés libres, ont étudié les acides aminés composant les tissus.

L'hydrolyse du ver à soie a donné les résultats suivants :

Glycocolle	10,2
Alanine	8,7
Leucine	4,8
Valine	1,7
Proline	1,5
Phénylalanine	2,4
Acide aspartique	1,6
Acide glutamique	3,5
Tyrosine	4,3

Enfin, mentionnons que Jazweska, en 1926, a mis en évidence la présence du tryptophane et la variation de sa teneur avec l'alimentation.

Une étude plus spécialement attachée à la forme de dégradation des protides chez les Invertébrés a donné des notions fort intéressantes sur le métabolisme de ces animaux. L'auteur n'a pas envisagé la classe des insectes mais nous

avons pu extraire de son travail des points de comparaison concernant les résultats que nous obtenions chez les lépidoptères : nous voulons parler des recherches de Delaunay sur l' « Excrétion chez les Invertébrés ».

Après avoir fixé dans un travail antérieur le rôle des acides aminés (constituants cellulaires) dans le métabolisme des protides, l'auteur a cherché à retrouver dans les excréta de ces animaux les formes de dégradation de ces acides aminés, c'est-à-dire l'urée et l'ammoniaque. Poussant plus loin ses investigations il a dosé *in situ* certains composés azotés dans les organes frais et la teneur en azote total et en azote non protéique d'animaux entiers.

I. — L'AZOTE TOTAL

Nous avons repris l'étude générale de la démolition de la molécule protéique larvaire jusqu'à l'édification des tissus imaginaires et nous avons tout d'abord établi la teneur en azote total des larves, des nymphes et des adultes.

Voici l'exposé de notre travail :

Technique utilisée. — Les dosages d'azote total ont été pratiqués par la méthode classique :

1° Destruction de la matière organique par le procédé Kjeldahl (mélange d'acide sulfurique et d'oxalate de potasse, agissant comme catalyseur) ;

2° Distillation de l'ammoniaque ainsi formé ;

3° Dosage de cet ammoniaque par le procédé au formol (technique Sorensen).

N.-B. — On peut aussi utiliser la destruction sulfo-perchlorique mise au point par Lematte, Boinot et Kahane.

Le dosage de l'azote non protéique se fait par la même méthode sur les broyats désalbuminés par l'acide trichloracétique.

Teneur en azote total des larves

Nous avons commencé nos dosages quand les chenilles avaient atteint quelques centimètres de longueur, environ au deuxième âge après la première mue, étant limités par un matériel précieux, dont les élevages fort délicats devaient suffire à tous nos dosages.

Pendant la première partie de la croissance larvaire, la teneur en azote total croît régulièrement, sans toutefois que cette augmentation suive l'élévation du poids frais.

Si l'on rapporte la teneur en azote total à 100 grammes de tissus frais, on trouve un chiffre qui baisse lentement, surtout à la fin de la vie larvaire. Tous nos dosages ont été pratiqués sur des bêtes débarrassées de leur contenu digestif.

Les Saturnides et les Attacus (et d'une manière générale les lépidoptères formant un cocon) semblent être plus riches en protides que ceux qui se transforment en pupe sans cocon.

Les deux tableaux ci-dessous expriment la moyenne des chiffres que nous avons obtenue sur deux espèces : Attacus Pernyi et Sphinx ligustri.

ATTACUS PERNYI (Chenilles)

Poids frais	Azote total (en grammes)	Teneur en azote total pour 100 gr. de tissus frais
5,450	0,185	3,4
6,902	0,248	3,6
7,419	0,291	3,8
8,865	0,292	3,3
9,737	0,282	2,9

SPHYNX LIGUSTRI

5,425	0,067,81	1,25
6,035	0,108,63	1,80
7,715	0,212	2,75
8,200	0,184	2,25
8,500	0,127	1,752

Nous avons ensuite dosé l'azote total dans un cocon fraîchement filé puis dans la larve enfermée avant le brunissement de ses téguments.

Nos résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Espèce	Poids frais	Teneur en azote total en milligr.	%
Saturnia Pavonia	0,235	42	17,8 %
	0,227	39,5	17,4 %
Attacus Pernyi	0,500	35	7,0 %

Azote total pendant la nymphose

L'azote total après avoir subi une baisse très sensible lors de la crise de métamorphose reste constant toute la longue période nymphale. Les résultats ne relatent que des différences individuelles.

C'est une conclusion qu'on pouvait prévoir *a priori* : on ne voit pas, en effet, par quel mécanisme la nymphe pourrait fixer l'azote atmosphérique. Ce qui peut varier pendant tout le travail chimique dont elle est le siège, c'est l'azote considéré sous une forme particulière : c'est ce que nous étudierons plus loin.

Nous résumerons ici nos résultats, car ils sont fort nombreux, en exprimant les moyennes établies par mois de nymphe.

Nous avons suivi ces dosages sur quatre espèces de Lépidoptères.

1° Azote total chez l'*Attacus Pernyi*

Mois	Poids de la nymphe (en grammes)	Azote (en milligr.)	Teneur en azote pour 100 gr. de tissus frais
Octobre	2,472	53,76	2,176
Novembre ..	2,916	73,52	2,35 %
Décembre ..	3,447	85,17	2,50
Janvier	2,183	48,02	2,20 %
Février	2,706	54,12	2,00 %
Mars	4,900	130,75	2,66

(en mars les dosages furent effectués sur la femelle pleine d'œufs)

2° Azote total chez le *Saturnia Pavonia*

Mois	Poids de la nymphe (en grammes)	Azote (en milligr.)	Teneur en azote pour 100 gr. de tissus frais
Octobre	2,450	54,25	2,22
Novembre ..	1,475	30,83	2,09
Décembre ..	1,280	30,40	2,375
Janvier	1,420	32,44	2,285 %
Février	1,270	27,49	2,165 %
Mars	0,900	22,32	2,48

3° Azote total chez le *Saturnia Pyri*

Mois	Poids de la nymphe (en grammes)	Azote (en milligr.)	Teneur en azote pour 1.000 gr. de tissus frais
Octobre	4,687	149,9	3,2 %
Novembre ..	4,425	146,38	2,82 %
Décembre ..	5,000	155,00	3,10 %
Janvier	5,536	161,00	2,95 %
Février	5,080	142,00	2,80 %
Mars	3,100	88,55	2,83 %

4° Azote total chez le *Sphynx Ligustri*

Mois	Poids de la nymphe (en grammes)	Azote (en milligr.)	Teneur en azote pour 1.000 gr. de tissus frais
Oc'tobre	3,900	66,30	1,70 %
Novembre . .	3,017	58,83	1,95 %
Décembre . .	3,628	73,28	2,02
Janvier	3,735	64,24	1,72
Février	2,985	53,73	1,80 %
Mars	2,950	51,62	1,75 %

Tous ces chiffres expriment la teneur en azote total de l'animal entier y compris sa gaine de chitine.

Azote total chez l'adulte

Les adultes ont une teneur absolue en azote total nettement inférieure à celle des chrysalides :

- 1° Par perte de l'enveloppe de chitine ;
- 2° Par évacuation du méconium.

La teneur en azote rapportée à 100 grammes de tissus frais n'est pas différente de celle des chrysalides : la perte en azote est compensée par une perte de poids notable à l'éclosion.

Les femelles sont toujours plus riches en protides que les mâles à cause de leurs œufs ; nous avons dosé séparément la richesse en azote de quelques pontes.

Voici quelques résultats de notre travail sur trois espèces :

Especies et sexes	Poids	Azote total (en mmgr.)	Azote total pour 100 gr.
<i>Saturnia Pavonia</i> (mâle)	0,455	16,85	3,70
— (mâle)	0,540	17,7	3,27
— (fem. sans œufs)	1,400	37,4	2,65
— (fem. avec œufs)	1,650	69,30	4,20
<i>Attacus Pernyi</i> (mâle)	0,700	31,9	4,40
— (femelle)	0,770	27,5	3,35
— (fem. sans œufs)	2,350	58,8	2,50
— (fem. avec œufs)	2,750	102,8	3,8
<i>Attacus Cynibia</i> (fem. avec œufs)	1,750	69,9	3,90
— (fem. avec œufs)	1,800	73,15	4,00
— (fem. sans œufs)	2,245	47,9	2,10
— (ponte)	0,400	41,00	1,10

II. — L'AZOTE NON PROTÉIQUE

Lorsque l'on détermine l'azote protéique et l'azote non protéique dans les tissus des vertébrés, on constate que l'azote sous cette dernière forme ne constitue qu'une très faible proportion de l'azote total.

Autrement dit l'azote des tissus se trouve presque totalement engagé dans des combinaisons protéiques. Or, chez les insectes, le « non-protéique » occupe une portion particulièrement élevée de l'ensemble des combinaisons azotées : d'abord chez la larve où il augmente à la fin de la croissance puis, au cours de la métamorphose par la désintégration des protides à grosses molécules.

On sait que l'on dose sous le nom d'azote non protéique des constituants très différents : les uns comme les urates sont des substances de déchet, les autres comme les acides aminés jouent un grand rôle dans les phénomènes d'histolyse et d'histogénèse.

Nous avons essayé de suivre la variation de ces constituants ; mais tout d'abord pour fixer l'ordre de grandeur de cet azote non protéique, voyons les teneurs observées dans les trois stades de développement de l'insecte.

Teneur en azote non protéique exprimée en grammes pour 100 grammes de tissus frais

Espèces	Larves	Nymphes	Adultes
Saturnia Pavonia	0,285	0,800	0,565
Saturnia Pyri	0,300	0,720	0,611
Attacus Peynyi	0,195	0,900	0,800
Sphinx Pinastri	0,225	0,600	0,486

Ces chiffres ont été établis pour des animaux entiers.

Peu de dosages ont été effectués jusqu'ici chez les Invertébrés : seuls, les travaux de Delaunay nous permettent de donner quelques chiffres à titre de comparaison.

Teneur en azote non protéique d'animaux entiers (exprimée en grammes pour 100 grammes de tissus frais)

Ostréa edulis	0,198 %
Limax agrestis	0,100 %
Helix pomatia	0,286 %
Aplysia	0,100 %

On voit immédiatement à la lumière de ces chiffres que les teneurs les plus faibles des larves que nous avons étudiées sont encore supérieures à celles des animaux ci-dessus cités.

Ce qui peut varier au cours des phénomènes d'évolution du cycle des métamorphoses, ce n'est pas comme nous l'avons vu, l'azote total mais l'azote considéré sous une forme particulière protéique ou non protéique.

Il nous a paru intéressant d'établir le rapport de l'azote non protéique à l'azote total aux différents stades de transformation.

Pour résumer nos résultats qui sont fort nombreux nous avons établi les moyennes de nos dosages :

- 1° Pour des larves au cinquième âge (adultes) ;
- 2° Pour les nymphes par mois de nymphose ;
- 3° Chez l'adulte dans les deux sexes.

Rapport de l'azote non protéique à l'azote total

Chez les larves :

Attacus Pernyi	12	%
Sphinx Ligustri	18	%
Saturnia Pyri	11,8	%

Chez la nymphe :

	Oct.	Nov.	Déc.	Janv.	Fév.	Mars
Saturnia Pavonia	18,5	21	24	32	36	24
Saturnia Pyri	17	19	22	24	30	27
Sphinx Ligustri	12	14	16	20	25	22
Attacus Pernyi	19	28	32	36	31	29
Attacus Cynthia	16	20	25	30	32	25

Chez l'adulte :

	Mâles	Femelles
Attacus Cynthia	22,3	32
Attacus Pernyi	23	31
Sphinx Pinastri	16,5	27
Saturnia Pavonia	11	30

Parmi les travaux qui ont trait à cette question il n'existe pas d'animal ayant atteint une teneur aussi élevée.

Elle s'explique chez la larve par l'accumulation progressive au sein du tissu adipeux d'urates et de produits d'excrétion. Puis, peu à peu, au début de la métamorphose les pre-

mières molécules protéiques qui s'hydrolysent, donnant naissance à des acides aminés qui sont alors les agents essentiels de la variation observée chez les nymphes.

On voit nettement à l'examen du tableau II que le rapport $\frac{\text{N non protéique}}{\text{N total}}$ va sans cesse croissant pendant les

premiers mois de la nymphose pour diminuer rapidement lors de la formation de l'imago.

Chez ce dernier, le taux de l'azote non protéique tend à revenir au même taux que chez la larve : une grande partie de cet azote est contenu dans le méconium ; et la femelle a toujours un taux plus élevé que le mâle.

III. — LES PEPTONES

Lors de la fragmentation de la grosse molécule protéique, on doit trouver dans les produits d'histolyse le stade de dégradation intermédiaire entre les protides et les termes ultimes de la protéolyse : ce sont les peptones.

Nous avons suivi l'évolution de ces protéoses, d'une part au cours de la nymphose des Lépidoptères que nous étudions et d'autre part chez le Bombyx Mori.

Le Bombyx Mori diffère un peu des Lépidoptères Sphingidés ou Saturnides considérés, par le fait que sa nymphose est courte — 18 à 21 jours — alors que celle des autres s'étend sur huit mois et quelquefois davantage.

Pour l'étude parallèle des variations de nombreux constituants de la matière vivante, il était nécessaire de s'adresser à des insectes à métamorphoses longues. Le travail s'accomplit lentement et permet à la méthode chimique de suivre dans son ensemble, l'évolution d'un grand nombre de composants pris dans les mêmes conditions physiologiques.

Au contraire la métamorphose courte du Bombyx Mori présentait en ce qui concerne les peptones l'avantage de pouvoir les suivre chaque jour de la nymphose, pendant les 21 jours, chacun des résultats obtenus correspondant à un état nymphal différent.

Aucun auteur, à notre connaissance, n'a recherché l'existence ni suivi les variations des peptones pendant la nymphose.

Technique utilisée. — Nos dosages ont porté tout d'abord sur le sang. Voici comment nous opérons :

Chez les larves. on recueillait une quantité d'hémolymphes par coupure d'une patte membraneuse, par exemple 0,1 cmc.

A ce dixième de cmc. on ajoutait : 0,9 d'eau distillée, 0,2 de sous-acétate de plomb, 0,3 de solution de carbonate de soude saturée.

On filtre sur entonnoir de Joulie et au liquide clair ainsi obtenu, on ajoutait : 0,2 de lessive de soude, et une goutte de solution de sulfate de cuivre.

Au bout de quelques instants, il se forme une belle teinte violette, c'est la réaction du Biuret.

Nous avons essayé de doser les peptones par cette méthode avec une solution titrée de peptone de Wite à 3 p. 1.000 : l'intensité des colorations obtenues n'est pas rigoureusement proportionnelle à la teneur en peptones. On ne peut donc pas baser sur cette réaction une méthode colorimétrique. Nous nous sommes donc contentés d'une approximation qualitative.

Pour les nymphes, nous avons effectué un broyage aussi complet que possible et prélevé une portion aliquotée du liquide clair filtré quand il ne nous a plus été possible de séparer le milieu intérieur, c'est-à-dire à partir de la fin du mois de novembre.

Les Peptones chez le Bombyx Mori

Étudions d'abord chez cet insecte l'évolution des peptones. Elles apparaissent primitivement dans le milieu intérieur et la réaction du Biuret ne devient positive que dans les deux ou trois jours qui précèdent le filage : aussi imparfaitement que nous pouvons l'affirmer, elles paraissent augmenter durant les jours qui suivent pour demeurer ensuite pendant plus de la moitié de la nymphose. Ensuite, elles disparaissent et nous n'en avons pu trouver ni dans la nymphe à la fin de son évolution ni chez l'imago.

Le tableau ci-dessous résume nos observations sur un même lot de Bombyx Mori, suivi pendant toute leur métamorphose.

ÉPOQUES	RÉACTION DU BIURET
Chenille au 5 ^e âge	Négative
— au moment du filage	Fortement positive
— dans le cocon	Fortement positive
Nymphe : 1 ^{er} jour	Positive
— 3 ^e jour	Positive
— 5 ^e jour	Positive
— 7 ^e jour	Faiblement positive
— 12 ^e jour	Traces
— 15 ^e jour	Traces
— 17 ^e jour	Négative
— 21 ^e jour	Négative
— Éclosion	Négative

Les Peptones chez les Lépidoptères à longue métamorphose

Chez les espèces suivantes : *Attacus Pernyi*, *Saturnia Pyri*, *Saturnia Pavonia*, *Sphinx ligustri* la date d'apparition des peptones dans le milieu intérieur n'est pas rigoureuse. On les trouve quelquefois un peu avant le début du filage, d'autres fois quand la chenille est déjà dans son cocon.

Elles demeurent pendant les trois premiers mois de la nymphose. Les dates ultimes des réactions positives furent jusqu'au 30 septembre pour l'*Attacus Pernyi*, 7 octobre pour le *Saturnia Pyri*, et 12 octobre pour le *Saturnia Pavonia* : au delà de ces dates on ne trouve plus de peptones.

On pouvait penser que si les peptones sont un des termes importants de la dégradation des protides elles doivent réapparaître dans les travaux de synthèse.

Nous avons guetté minutieusement la réapparition de ces protéoses sans les retrouver d'une façon certaine pendant l'édification des tissus imaginaires.

Toutefois, nous devons signaler que deux seules fois dans nos dosages nous avons obtenu une réaction positive pour le *Saturnia Pyri* au début de janvier et pour le *Sphinx ligustri* à la fin de décembre.

Conclusions

On conçoit aisément toute l'importance de ces résultats. On est accoutumé de ne rencontrer normalement les peptones chez les êtres vivants supérieurs que dans le seul système digestif. Chez les Mammifères, par exemple, après une attaque aussi légère que possible des matières albuminoïdes par les ferments salivaires, la véritable attaque ne commence vraiment qu'au niveau de l'estomac et sous l'action combinée de l'acide chlorhydrique et de son « catalyseur », la pepsine, on voit rapidement les grosses molécules protéiques perdre leur intégralité et se scinder en des tronçons plus simples :

les peptones ; sur le chemin de la démolition ce sont les premières étapes.

Nous verrons ultérieurement que nous avons pu mettre en évidence dans le sang des insectes qui nous intéressent la présence de ferments protéolytiques du type « pepsine » mais il est déjà très intéressant de localiser par le seul secours de la chimie, le siège de cette destruction tissulaire et son lieu d'origine.

C'est en effet le sang (ou hémolymphe) qui préside chez les Lépidoptères à ces mutations de matière. Fait inconnu ou du moins très peu répandu chez les Vertébrés supérieurs, on voit ce « liquide vital » se charger successivement de tous les produits de déchet des protéides (albumoses, acides aminés...) et propager cette action destructrice par le transport des diastases appropriées.

Mais, quand ce travail d'histolyse touchera à sa fin, quand l'Insecte ne sera plus qu'une « bouillie informe », on cherchera en vain dans le magmas nymphal à retrouver les jalons d'une marche ascendante et reconstructive et l'extrême rapidité d'action de ces mêmes diastases réversibles nous empêchera de marquer les points de repère de ce formidable travail de synthèse.

IV. — LES ACIDES AMINÉS

Historique

Dans un travail sur la concentration moléculaire du sang des Insectes, nous avons montré avec P. Portier et M. Duval, que celle-ci n'était due que pour une part relativement faible aux substances salines. Poursuivant l'étude de cet indosé du milieu intérieur, nous avons pu mettre en évidence une proportion assez élevée d'acides aminés dans le sang de différents insectes parfaits : *Dytiscus marginalis*, *Hydrophilus piceus*, *Tenebrio molitor*, *Melolontha vulgaris*, *Blatta germanica*.

Chez des larves :

Cossus-cossus, *Attacus Pernyi*, *Attacus cyntia*, *Saturnia Pyri*, *Tenebrio molitor*.

Ces teneurs sont particulièrement élevées puisque pouvant atteindre 1,5 à 2 grammes d'azote aminé par litre de sang, ce qui fait approximativement 9 à 10 grammes d'acides aminés.

Rappelons, comme point de comparaison, que le sang des mammifères ne renferme pas plus de 0 gr. 1 d'azote aminé par litre, et que le sang des Invertébrés atteint rarement cette concentration si on s'en rapporte aux récents travaux de Delaunay. Parallèlement à ces recherches, les auteurs américains Bishop, Briggs, Ronzoni, mettaient en évidence les acides aminés dans le sang des larves d'abeilles.

Dans le présent mémoire, nous nous sommes attachés à établir d'une façon précise la date d'apparition de ces acides aminés dans le sang des larves ; à suivre les variations qu'ils subissent au cours de la métamorphose, et la teneur des êtres adultes, chez quatre Lépidoptères que nous avons pu suivre.

Recherches Personnelles

I. — ACIDES AMINÉS CHEZ LES LARVES

Nous avons commencé nos dosages, dès que les chenilles nous ont permis de recueillir quelques dixièmes de cmc. de sang chacune. Nous opérons sur 2 cmc. environ.

La teneur en azote aminé est très faible quand la chenille a déjà subi trois mues, c'est-à-dire, dans le quatrième âge.

La moyenne d'un grand nombre de dosages nous permet de fixer ce taux aux environs de 0 gr. 30 à 0 gr. 50 par litre. Cette teneur va rester constante jusqu'à la fin de la croissance, et c'est seulement dans la deuxième partie du cinquième âge, c'est-à-dire dans la période qui précède immédiatement la crise de métamorphose, que nous verrons les acides aminés s'élever rapidement, jusqu'à atteindre la valeur de 3 gr. 27 par litre dans la larve d'*Attacus cynthia*.

On peut dire que l'existence aussi forte d'acides aminés dans le sang des larves adultes, est la première indication chimique qui fasse percevoir les nombreuses perturbations qui troublent le métabolisme de l'animal et qui le mettent dans cet état d'inertie et de non-nutrition qui précède de quelques heures le filage du cocon.

Nous verrons dans une autre partie de notre travail, que l'élévation du taux des acides aminés coïncide avec deux phénomènes morphologiques importants :

1° L'accroissement intense des disques imaginaires ;

2° L'apparition dans le sang d'éléments figurés plus nombreux et surtout plus grands qui constituent de véritables amœbocytes.

En dehors de nos examens histologiques qui complètent les résultats fournis par nos dosages, nous avons remarqué que le sang se modifiait très nettement aux environs de la période de crise.

Le sang des jeunes chenilles est un liquide très clair qui ne donne aucun précipité avec le sous-acétate de plomb, et un très léger précipité avec l'acide trichloracétique.

Au contraire, à la fin de la vie larvaire, le milieu intérieur est chargé en sucre, en peptone, en acides aminés, en matières protéiques (éléments leucocytaires) et donne un abondant précipité avec les déféquants cités.

Il paraît vraisemblable de penser que les acides aminés dont s'est chargé le milieu intérieur, résultent du début de dégradations de certaines matières protéiques. N'y aurait-il pas ici l'action directe d'un ferment leucocytaire protéidique, présidant aux premières atteintes de l'histolyse ? C'est ce que nous avons essayé de mettre en évidence.

Si l'on dose les acides aminés dans les tissus d'une larve préalablement saignée et débarrassée de son contenu digestif, on n'en trouve que des traces inappréciables. C'est donc le milieu intérieur qui contient les premiers éléments de la dégradation des tissus qu'il baigne.

Il faut attendre la fin du filage du cocon pour les « Saturnia » et les « Attacus », et la formation du tégument brun chez les Sphinx pour que l'on trouve une quantité appréciable d'acides aminés dans les tissus.

Quand les larves sont transformées en nymphes, et que l'histolyse s'est manifestée sur tous les organes qui doivent disparaître, le sang se sépare difficilement du reste des tissus. Il est chargé des débris histolytiques ; nous avons alors pratiqué nos dosages sur les animaux entiers. Après un broyage aussi complet que possible à l'eau chaude, et nous avons rapporté nos résultats à 100 grammes de tissus frais.

Le tableau ci-dessous résume les teneurs que nous avons établies dans le sang des larves de cinq Lépidoptères. Les chiffres sont exprimés en grammes par litre de sang.

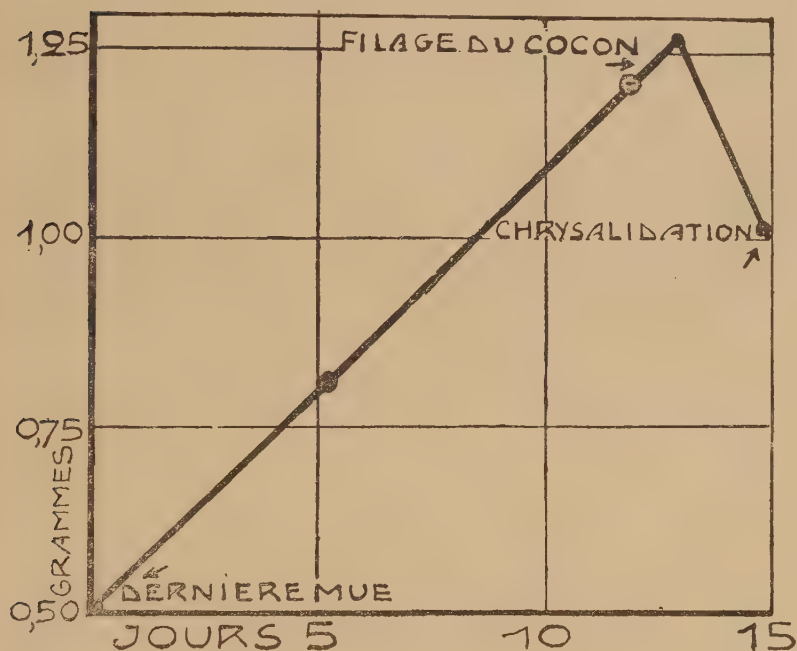
Nous avons utilisé la méthode de dosage des acides aminés de Sorensen après défécation à l'acide trichloracétique. Cette technique dose en même temps que les acides aminés, l'ammoniaque. Chez la larve et la nymphe, on ne trouve pas d'ammoniaque et peu avant l'éclosion le réactif de Nessler en décèle des traces seulement. L'élément ammoniacal peut donc être considéré comme entité négligeable, et nous pouvons prendre les chiffres donnés par la méthode de Sorensen comme ceux d'acides aminés intégraux. La courbe établie pour une seule espèce « Attacus Pernyi », montre plus nettement cette élévation brusque du taux de ces acides, à la crise de métamorphose.

Teneurs en acides aminés du sang de quelques larves

(chiffres exprimés en grammes par kg de tissus frais)

	4 ^e âge (10 jours)	5 ^e âge (8 jours)
Attacus Pernyi	0.31-0.30-0.29-0.31-0.77	0.86-1.24-2.25-2.50
Attacus Cynthia	0.35-0.32-0.35-0.40-0.80	0.90-1.80-2.25-3.30
Saturnia Pavonia	0.27-0.27-0.32-0.40-0.80	0.80-1.45-1.65-2.50
Saturnia Pyri	0.32-0.30-0.31-0.45-0.82	0.95-1.75-2.25-2.85
Sphinx ligustri	0.22-0.25-0.25-0.37-0.45	0.80-1.30-2.50-3.22

Courbe établie pour la larve d'Attacus Pernyi.



Courbe n° 3. — Croissance des acides aminés chez la larve d'Attacus Pernyi (teneurs exprimées en grammes pour 1.000 gr. de tissus frais)

II. — ACIDES AMINÉS PENDANT LA NYMPHOSE

Nous reprenons l'étude des acides aminés, quelques jours après ce qu'il est convenu d'appeler la phase critique de la métamorphose. Les larves se sont détournées de toutes les manifestations extérieures de la vie. Que se passe-t-il sous

l'enveloppe soyeuse de l'Attacus et sous la robe brune du Sphinx ? Un travail sourd mais actif s'élabore au sein de la cavité ténébreuse.

La métamorphose n'est point une destruction totale suivie d'une réintégration totale.

Les tissus de l'imago ne naissent point en un moment tardif au sein d'une bouillie informe. Dès l'éclosion de la larve, des cellules initiales annoncent l'insecte parfait. Les phénomènes complexes d'histologie et d'histogenèse s'imbriquent et ce n'est pas chose facile que de séparer d'une façon nette les deux sens de l'activité.

Considérons seulement les transformations morphologiques musculaires.

Nombreux sont les travaux histologiques qui traitent de cette question. Nous n'entrerons pas dans le détail de leur étude, ni dans l'exposé des controverses qu'ils soulèvent. Cela sortirait du cadre de notre sujet. Mais nous voulons insister sur le fait que chez les Lépidoptères que nous étudions, tous les organes ne sont pas néoformés. L'histolyse n'atteint certains d'entre eux que partiellement.

On peut résumer rapidement la métamorphose musculaire par la distinction de trois catégories de muscles différemment atteints.

Nous empruntons ces résultats au travail de M^{me} Hufnagel, sur l'« *Hypónomeuta padella* ».

1° *Muscles remaniés* :

Les muscles du vol, muscles thoraciques profonds, muscles abdominaux superficiels, muscles adducteurs du pharynx sont remaniés.

Leur évolution suit une règle générale.

Les muscles imaginaires croissent à partir des histoblastes qui se trouvent à l'intérieur du muscle larvaire. Celui-ci disparaît, disloqué par les amœbocytes.

La substance contractile perd sa striation caractéristique. Le muscle passe par un état de non-fonctionnement pendant toute la différenciation de sa structure.

2° *Muscles de néoformation* :

C'est le cas des muscles des organes génitaux externes, formés entièrement au dépens du disque imaginal.

3° *Muscles disparaissant pendant la nymphose :*

Le muscle adducteur de la mandibule. Au deuxième jour de la nymphose, la fibrillation longitudinale n'existe plus. Sa structure est méconnaissable. Les leucocytes interviennent pour se charger des débris musculaires en dégénérescence. Ces considérations d'ordre morphologique n'ont d'autre but que de nous expliquer sur la façon dont nous exposons nos résultats. La méthode chimique globale donne l'ensemble d'un phénomène, qui, dans le cas particulier de la métamorphose, ne coïncide pas rigoureusement avec le mécanisme intime du travail nymphal. Toutefois, elle nous permet de mettre en évidence que les processus d'histolyse sont nettement dominants dans une première phase qui s'étend de juillet à décembre, alors que l'édification des tissus de l'imago, macroscopiquement du moins, se fait entre janvier et mars.

Nous aurions voulu faire une étude détaillée comme au cours d'une histolyse *in vitro*, des différents acides aminés qui résultent de la démolition des matières protéiques larvaires. L'abondance des techniques longues et difficiles et surtout la quantité limitée du matériel, ne nous a pas permis de pousser jusque là notre étude. Nous avons cependant séparé pendant toute la durée de la nymphose les acides monoaminés des acides diaminés.

Voici la technique que nous utilisons :

1° On sait que l'acide trichloracétique et l'acide phosphotungstique sont connus à l'heure actuelle, comme les meilleurs déprotéinisants.

Une étude de l'acide trichloracétique en solution à 20 O/O montre que tous les protides sont précipités, sauf les protéoses et les peptones. Les acides aminés passent en totalité dans le liquide clair. La défécation à l'aide de l'acide trichloracétique permet donc le dosage des acides aminés totaux.

2° L'acide phosphotungstique précipite :

Les albumoses, les peptones, les acides diaminés, la phénylamine (acide monoaminé cyclique), les bases puriques, l'acide urique.

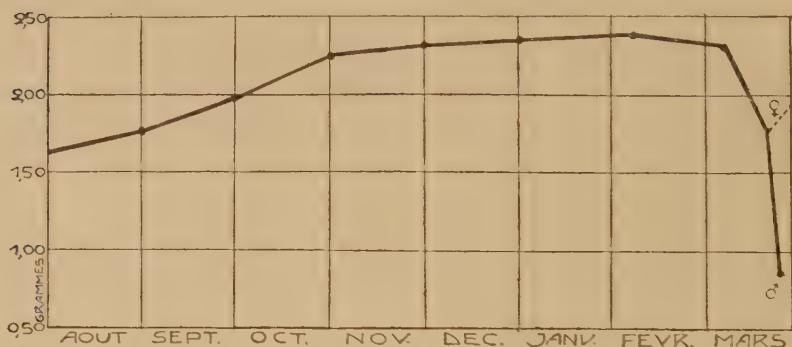
En employant parallèlement ces deux acides, nous séparons donc les acides monoaminés de l'ensemble des acides diaminés.

L'insecte, soigneusement pesé, était broyé à l'eau chaude. On séparait une partie connue, environ 15 cme., que l'on déféquait avec 5 cme. d'acide trichloracétique à 20 0/0, et une autre portion, 15 cme., avec 4 cme. d'acide phospho-tungstique préparé suivant la formule de Morel :

Acide phospho-tungstique	100 gr.
Acide sulfurique 66° B	70 gr.
Eau distillée, q. s.	1.000 gr.

Nos résultats se rapportent à 1 kilogramme de tissus frais. Les teneurs en acides aminés se rapportant aux larves et données précédemment étaient exprimées en grammes par litre de sang.

Nous avons établi quelques points particuliers chez la larve, à partir du moment du filage, et exprimés en grammes par kilo de tissus frais, afin qu'ils soient comparables à ceux que nous donnons pour la nymphe.



Courbe n° 4 — Variation des acides aminés pendant la nymphose d'*Attacus Pernyi*
(teneurs exprimées en grammes pour 1.000 gr. de tissus frais)

Ces acides aminés sont constitués en grande partie par des acides monoaminés.

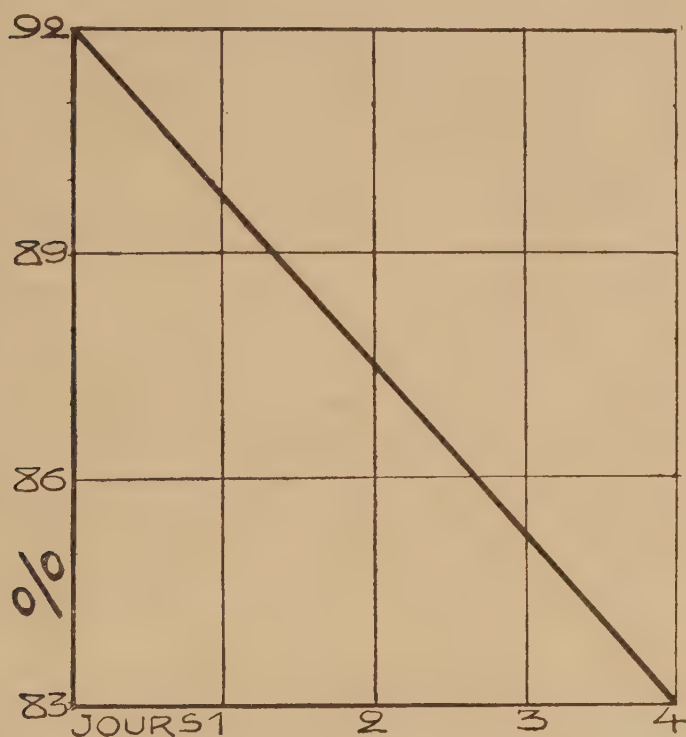
Les rapports des acides monoaminés aux acides aminés totaux restent sensiblement constants pendant toute la nymphose.

On constate une légère baisse de ce rapport au moment du filage du cocon, baisse que l'on peut attribuer à l'utilisation de la cystine ; de même, quand les tissus se constituent, les acides aminés qui disparaissent les premiers sont des acides monoaminés.

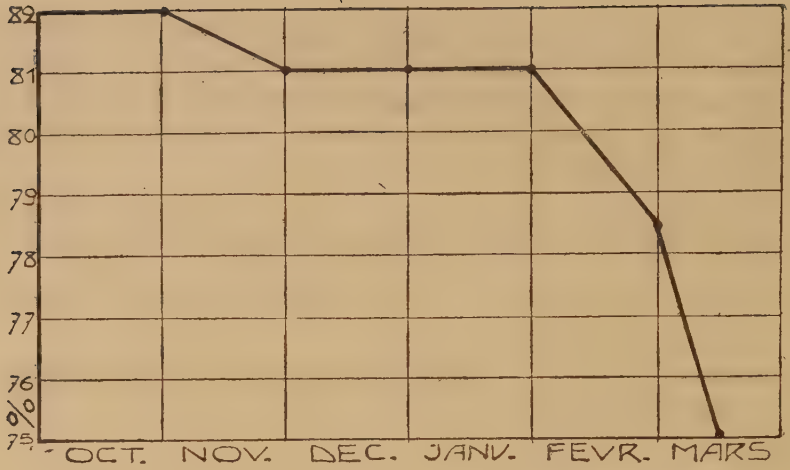
Parmi les acides diaminés, nous n'avons pu colorimétriquement mettre en évidence que des traces de tryptophane.

Nous donnons ici les courbes de variations du rapport
acides monoaminés

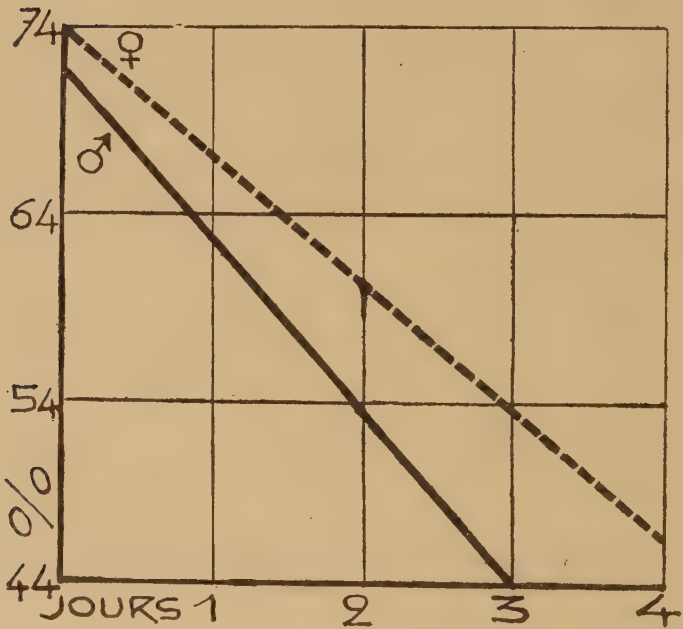
—————chez le Lépidoptère : *Attacus Pernyi*.
acides aminés totaux



Courbe n° 5. — Variations du rapport $\frac{\text{acides monoaminés}}{\text{acides aminés totaux}}$
chez la larve *Attacus Pernyi*



Courbe n° 6. — Variation du rapport $\frac{\text{acides monoaminés}}{\text{acides aminés totaux}}$
chez la nymphe d'Attacus Pernyi



Courbe n° 7. — Variations du Rapport $\frac{\text{acides monoaminés}}{\text{acides aminés totaux}}$
chez l'imago d'Attacus Pernyi

III. — ACIDES AMINÉS CHEZ L'ADULTE

C'est un fait assez curieux de constater la présence à l'éclosion des papillons d'une aussi grande quantité d'acides aminés.

L'imago est un animal dont la croissance est achevée en naissant. Ces acides aminés ne servent donc plus à l'édification de tissus nouveaux. L'adulte, comme nous l'avons déjà fait remarquer, est essentiellement constitué pour accomplir la fonction de reproduction. Dans les cas de nos élevages, et dans la nature, les papillons prennent peu ou pas de nourriture. Ils vivent cependant de 5 à 7 jours d'une vie active (mouvements rapides des ailes, actes de fécondation, ponte), pendant laquelle ils brûlent toutes les réserves dont ils disposent à la naissance. On voit donc que la teneur en amino-acides chez l'adulte s'explique comme une réserve de produits d'une digestion antérieure, utilisable pendant la vie imaginale.

Nous avons, en effet, constaté une diminution rapide du taux de l'azote aminé au troisième et quatrième jour de la vie adulte. Ce sont les acides monoaminés qui disparaissent, leur rapport aux acides aminés totaux s'abaissant de 74 0/0 à 44 0/0. La femelle est toujours beaucoup plus riche en acides aminés que le mâle, cela non pas à cause de ses œufs : nous avons vérifié qu'ils n'en contenaient pas.

Voici la moyenne des chiffres établis en grammes d'azote aminé par kilog. de tissus frais, chez les adultes à la naissance.

	Attacus Pernyi	Saturnia Pyri	Saturnia Pavonia	Sphinx Ligustri
Mâle	0.87	0.98	0.93	1.60
Femelle	1.93	1.90	1.75	1.90

A l'éclosion, le rapport des acides mono-aminés aux acides aminés totaux est de :

74 0/0 pour les femelles ;

72 0/0 pour les mâles.

Ce rapport est sensiblement le même dans les quatre espèces.

Quand la femelle fécondée a vécu quatre jours et accompli sa ponte, le rapport n'est plus que 46 0/0, et les acides aminés totaux ont diminué de moitié. Chez le mâle, après la fécondation, la teneur en acides aminés totaux est réduite au tiers du taux initial. Par exemple, chez *Attacus Pernyi*, on trouve 0 gr. 30 d'azote aminé au bout de trois jours, alors qu'à l'éclosion, la teneur était voisine de 0 gr. 87.

Le rapport des acides monoaminés est aux environs de 44 0/0.

Nous verrons à la fin du chapitre les enseignements que peuvent nous fournir ces résultats.

V. — ACIDE URIQUE

Historique

L'acide urique est le produit le plus important de la désassimilation chez les insectes.

Chaussier, en 1783, trouvait dans l'excrétion d'un ver à soie un acide qu'il appelait : acide bombycin. Davy, étudiant l'excrétion d'un Sphinx arrivait aux conclusions suivantes : « L'acide urique chez la chenille est souvent remplacé par l'acide hippurique. L'adulte est très riche au contraire. Un paon de nuit contient plus d'acide urique en poids qu'un oiseau-mouche pesant cent fois plus. »

Fabre, en 1856, signale le premier la présence de véritables cellules à urates dans le corps adipeux des Insectes. Cette localisation assez curieuse a soulevé à l'époque de nombreuses controverses avec Sirodot en particulier et nous renvoyons pour le détail de ces discussions à l'excellent travail de Marchal, sur « *l'Acide urique chez les Invertébrés* ».

Il est important toutefois de signaler ce rôle particulièrement intéressant du corps adipeux qui, au cours de la croissance larvaire fonctionne comme un véritable rein d'accumulation.

Anglas appelle les cellules à urates « excréto-sécrétrices » et leur attribue un rôle actif dans la digestion des cellules grasses auxquelles elles sont accolées.

Pérez pense différemment :

« Il n'y a aucune raison, dit-il, d'admettre *a priori*, que la cellule à urates secrète une diastase. Il paraît plus naturel de penser que les deux lignées de cellules croissent simultanément, les unes se chargeant de réserves, les autres d'urates ? Leurs rapports étroits sont purement topographiques. » »

Si de nombreux travaux ont paru sur le rôle et la localisation de l'acide urique, aucun travail, à notre connaissance, n'a donné de résultats quantitatifs, ni de variations au cours du cycle de développement des Lépidoptères : c'est ce que nous avons essayé d'établir.

Technique utilisée. — Nous avons employé la méthode de Grigaut, qui est basée sur la coloration bleue que donne l'acide urique avec le réactif phosphotungstique de Folin et Denis.

Après avoir soigneusement pesé l'insecte entier, on le broyait entièrement à l'eau chaude alcalinisée à 10 0/0 et la liqueur mesurée était déféquée à l'acide trichloracétique à 20 0/0.

On prélève une partie du liquide clair pour effectuer le dosage.

Voici comment nous opérons :

On établit d'abord un tube-témoin à l'aide d'une solution d'acide urique pur à 200 mgrs par litre. Cette solution ne garde son titre rigoureux que quelques jours, malgré les nombreux antiseptiques que nous avons essayé (chloroforme, toluène, thymol, cristal d'acide trichloracétique).

A 1 cmc. de cette solution on ajoute : 1/2 cmc. d'acide trichloracétique à 10 0/0, 1 cmc. de réactif phospho-tungstique, et on complète à 25 cmc. avec une solution saturée de carbonate de soude saturée.

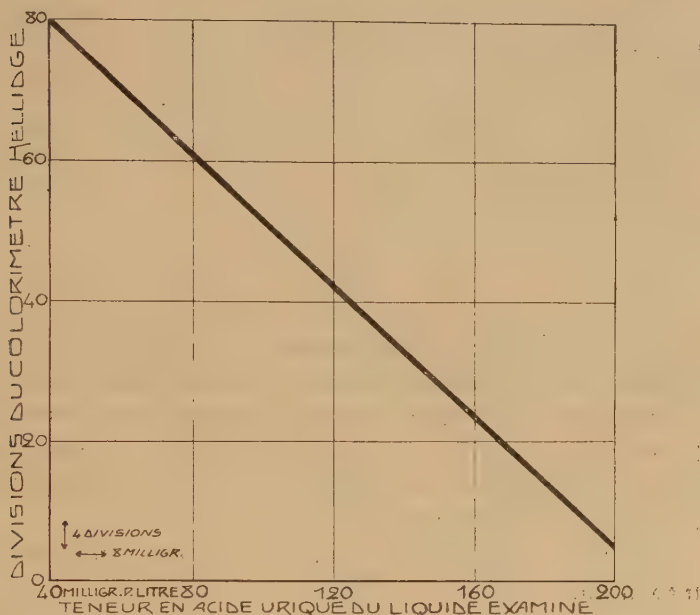
Au bout de quelques minutes, la coloration a atteint son **maximum**.

Nous nous servions, pour faire nos mesures, du « Compareur de Hellige ». La solution-témoin est placée dans le prisme triangulaire. La solution à mesurer qui comprend : 1 cmc. du liquide désalbuminé, 1 cmc. de réactif phospho-tungstique, complétée à 25 cmc. par la solution de carbonate, est mise dans la cuve à faces parallèles.

Note de technique. — Si la teinte du liquide X à doser, est trop pâle, on en prend 2, 3 ou 4 cmc. et, inversement, si la teinte de la solution étalon est trop faible on en mesure un nombre de cmc. suffisants pour avoir deux teintes comparables au colorimètre.

Pour faciliter la rapidité de nos dosages nous avons établi une courbe permettant de déterminer immédiatement la teneur en acide urique par litre de liquide quand on est parti de 1 cmc. de liquide à mesurer. Dans un cas différent, il est facile de rétablir la **proportionalité**.

Nous avons, dans ce but, porté en ordonnée les divisions du colorimètre et en abscisse la teneur en milligrammes d'acide urique par litre de liquide.



Courbe n° 8

Si par exemple, avec 1 cmc. du liquide à mesurer on trouve 50 divisions au colorimètre, la teneur en acide urique est de 104 mgrs par litre.

Recherches Personnelles

1° Acide urique chez la larve

Lorsque l'on étudie l'excrétion des larves phytophages on est étonné de voir que la presque totalité des excréments est constituée par des feuilles broyées mais non digérées. Ces résidus d'aliments non assimilés sont agglomérés avec des urates, de l'acide urique, des phosphates, oxalates et carbonates de calcium et divers pigments.

On ne trouve l'urée qu'à l'état de traces ainsi que l'ammoniaque. C'est d'ailleurs un fait connu que l'acide urique est le produit dominant de l'excrétion chez les insectes.

Mais si l'acide urique que nous recherchons chez les larves n'était que celui qui doit être excrété, son dosage n'aurait qu'un intérêt médiocre. Il paraît jouer au contraire dans la métamorphose des Insectes un rôle beaucoup plus important que celui de substance inerte. C'est qu'en effet la larve, au cours de sa croissance, accumule l'acide urique non seulement dans son appareil excréteur (tubes de Malpighi) mais aussi dans son corps adipeux, véritable organe hépatique de réserve.

La larve, toute jeune, contient déjà de l'acide urique et sa teneur ne fait que croître au cours de la croissance ; elle atteint son maximum au début du filage, stade pendant lequel le corps adipeux en contient une forte proportion.

Pour pratiquer nos dosages, les larves étaient toujours débarrassées de leur contenu digestif. Voici les résultats auxquels nous sommes arrivés pour les espèces suivantes :

Epoques	Saturnia Pavonia	Sphinx Ligustri	Saturnia Pyri
2 ^e âge	0,480	0,360	0,495
3 ^e âge	0,525	0,470	0,538
4 ^e âge	0,575	0,493	0,547
4 ^e âge	1,300	1,160	1,250

Ces chiffres expriment la teneur en grammes pour 1.000 grammes de tissus frais.

2^e Acide urique pendant la nymphose

Si pour les mammifères supérieurs les travaux récents de Embden et de Parnas, sur les « Nucléotides puriques du muscle » tendent à démontrer que la totalité de l'acide urique et des bases puriques rencontrées dans l'organisme ne proviennent pas uniquement d'une dégradation des acides nucléiques tissulaires, et de ceux qu'apportent l'alimentation,

il faut bien admettre au moins chez les insectes holométaboles que leurs présences ont pour signification physiologique essentielle le témoin de cette dégradation.

Les nymphes des lépidoptères sont un sujet d'études particulièrement intéressant. L'organisme en état de nymphose n'a pas de relation avec le milieu extérieur : le facteur alimentation est supprimé, et nous savons par ailleurs que la nymphe est pendant une longue période le siège d'une histolyse importante. De nombreux noyaux cellulaires se trouvent libérés de leur protoplasme et probablement dégradés.

Nous avons donc suivi l'évolution de l'acide urique et nos résultats ont vérifié notre hypothèse à savoir que pendant toute la période où s'effectue la dégradation des protides le taux de l'acide urique croît. Pendant la période d'édification des tissus on observe une légère diminution, qui semble due à la reconstitution de nouvelles cellules.

Le tableau ci-dessous résume nos résultats :

Mois	Saturnia Pavonia	Sphinx Ligustri	Saturnia Pyri
Octobre	3,10	2,80	4,25
Novembre	5,90	4,70	5,70
Décembre	5,80	5,40	5,50
Janvier	4,53	5,80	4,65
Février	3,10	4,90	3,85
Mars	2,80	3,25	2,10
Avril		2,05	

Ces chiffres expriment la teneur en grammes pour 1.000 grammes de tissus frais.

A la fin de la période nymphale l'acide urique subit des déplacements qui sont encore mal connus. Le sort de cette dioxypurine se résume comme suit :

Une portion disparaît pour être transformée, vraisemblablement, en nucléoprotéides ;

Une autre s'est localisée dans les tubes de Malpighi pour être excrétée lors de l'éclosion sous forme de méconium ;

Une troisième a émigré dans les ailes, sous forme de guanine et de xanthine, pour en former les écailles brillantes ; Enfin, l'adulte naît avec une certaine teneur.

3° *Acide urique chez l'adulte*

Pris au début de l'éclosion, l'adulte naît avec une proportion relativement élevée d'acide urique, qui semble toujours supérieure chez le mâle. Il faut remarquer que la femelle contient des œufs qui constituent environ le huitième de son poids total.

Quand l'adulte a perdu son méconium, la teneur baisse sensiblement. Nous avons dosé séparément dans quelques cas l'acide urique contenu dans le corps et dans les ailes ; ces dernières sont peu riches en acide urique libre.

Voici l'ensemble de nos résultats :

Espèces et sexe	Teneur en gr. par 1.000 gr. de tissus frais
Saturnia Pyri (femelle)	1,20
— (mâle)	3,47
Saturnia Pavonia (femelle)	1,25
— (mâle)	2,40
Sphinx Ligustri (femelle)	1,06
— (mâle)	2,80

Teneur en acide urique des ailes chez le Saturnia Pyri :

Poids total de l'animal :	2,887
Poids des ailes fraîches :	0,664
Teneur en acide urique des ailes :	0,000079
Teneur pour 1.000 grammes de poids frais :	0,120.

Dans son travail sur la dégradation de l'acide urique chez les Invertébrés, Marchal relate une série d'expériences faites sur les larves de Vanessa et de Piéris. L'auteur a cherché d'abord l'uricase et a trouvé une uricase et une allantoinase.

Ensuite, il injectait des quantités connues d'acide urique

et le retrouvait au dosage. Il conclut donc que les insectes ne dégradent pas l'acide urique : il les appelle « *urico-statiques* ».

On sait que chez les insectes, le cytochrome est abondant au sein des cellules. D'autre part les travaux récents de Miss Robinson ont montré que les pigments ferrugineux catalysent les oxydations d'une façon beaucoup plus active que ne le ferait une quantité équivalente de fer sous une forme saline.

L'acide urique pourrait être attaqué *in vivo* par ce pigment sans intervention enzymatique.

Nous aurions voulu voir si l'allantoïne existait chez les insectes, et d'autre part, mettre en évidence quelques-uns des intermédiaires comme la xanthine, la guanine ou l'adénine, termes si importants dans les stades de dégradation des acides nucléiques et dans leur reconstruction.

Mais ce problème offre les plus grandes difficultés. Même lorsqu'il est possible de travailler sur des masses importantes de corps puriques totaux, les opérations longues et complexes ne peuvent conduire qu'à des résultats grossièrement approchés.

Les travaux actuels sur les corps puriques de l'urine, nécessitent des prises d'essai de 100 à 1.000 litres.

Récemment (février 1931), Boivin, pour son excellent travail sur les corps puriques et pyrimidiques de l'organisme, a mis au point une série de microméthodes qui nous permettront peut-être d'appliquer ces dosages aux insectes.

Conclusions Générales

Il résulte des recherches quantitatives que nous avons faites qu'il faut considérer deux évolutions différentes dans le métabolisme de l'acide urique.

1° La larve accumule au cours de sa croissance une certaine quantité de ce composé qui est mis soigneusement en

réserve pour des besoins ultérieurs ; en effet, l'édification de l'imago nécessite un déplacement et une transformation d'une notable portion de cette purine, matière première nécessaire à la formation des cristaux alaires.

2° Chez la nymphe, le taux de l'acide urique augmente progressivement et on peut admettre qu'il est le résultat de la dégradation des nucléoprotéides tissulaires. Sa disparition lors des travaux de synthèse permettrait de penser que les nymphes sont capables d'accomplir l'inverse des réactions d'hydrolyse, c'est-à-dire d'engendrer un nucléotide à partir du terme final de son catabolisme.

Ceci reste du domaine de l'hypothèse.

3° Chez l'adulte.

Les ailes contiennent peu d'acide urique libre ; par contre, toutes les écailles sont formées par les premiers termes que l'on rencontre lors de l'hydrolyse des acides nucléiques, c'est-à-dire la xanthine, la guanine et l'adénine, qui forment les brillants cristaux. L'excès des réserves d'acide urique non utilisé pour l'édification de l'imago est évacué sous forme de méconium.

Nous espérons, dans l'avenir, pouvoir donner des résultats quantitatifs sur ces composés.

LE MÉCONIUM

On sait que les lépidoptères excrètent peu après leur naissance, quelquefois même pendant la sortie du cocon, un liquide épais, rougeâtre, bien connu des anciens et qu'on appelle méconium.

On peut considérer ce liquide comme le résidu de l'élaboration des tissus de l'imago aux dépens de la bouillie nymphale. Au cours du travail actif de la Nymphose les produits de désassimilation se sont déplacés des divers organes pour aboutir aux tubes de Malpighi d'où ils sont excrétés.

Nous avons voulu voir quelles étaient ces substances et établir les proportions que chacune d'elles occupait par rapport au volume total.

La quantité de méconium excrété par individu chez *Attacus Pernyi* varie entre 0,1 cmc. et 0,4 cmc. Il arrive même que cette quantité est beaucoup plus faible. La pression qu'exerce l'enveloppe chitineuse de la chrysalide sur l'abdomen du papillon et les mouvements que fait celui-ci pour sortir provoquent souvent l'expulsion du méconium à l'intérieur du cocon. On retrouve alors une concrétion qui, dissoute dans une faible quantité d'eau distillée donne à l'analyse les mêmes substances que le méconium liquide. Pour recueillir une plus grande quantité de celui-ci, nous préparons à l'avance une série de capsules tarées et gardées dans un dessiccateur. La naissance des Papillons doit être surveillée avec soin. Au bout d'une heure, quand les ailes se sont durcies, on commence à provoquer la sortie du méconium dans une capsule par quelques excitations sur les antennes.

Quand ce moyen n'est pas suffisant, quelques pressions sur l'abdomen permettent d'en recueillir la presque totalité.

Nous avons pu opérer sur trois espèces de nos lépidoptères : *Attacus Pernyi*, *Sphinx ligustri* et *Saturnia Pyri*, et nous avons dosé successivement :

1° L'azote total par un micro Kjeldahl ;

- 2° L'azote non protéique ;
- 3° L'azote titrable au formol (Az aminé et Az ammoniacal) ;
- 4° L'acide urique (méthode de Grigaut) ;
- 5° L'urée (méthode de Fosse) ;
- 6° Le phosphore minéral (méthode Briggs).

La substance sèche du méconium représente 5 0/0 du poids frais.

On ne peut évaluer à 95 0/0 la teneur en eau de celui-ci, certains composés volatils disparaissant au cours de la dessiccation nécessaire pour évaluer le poids de la substance sèche. On peut évaluer cette perte à 1 ou 2 0/0 de l'azote total.

Une défécation : à l'acide trichloracétique nous a montré que tout l'azote était à l'état non protéique.

Cette teneur est pour les trois espèces étudiées, voisine de 5 0/0 de la substance fraîche.

Le tableau ci-dessous résume les résultats de l'analyse de la substance sèche. (Les chiffres expriment la moyenne de plusieurs dosages.)

	<i>Attacus Pernyi</i>	<i>Salurnia Pyri</i>	<i>Sphinx Ligustri</i>
Acide urique	26,20	23,00	25,00
Ammoniaque	0,60	0,30	1,20
Azote aminé	3,10	2,70	2,90
Urée	traces	traces	traces
Phosphore minéral	2,50	2,10	1,90
(ces chiffres sont exprimés en grammes pour 100 grammes de substance sèche)			

Nous avons analysé le méconium des mâles et celui des femelles séparément et nous n'avons pas constaté de différences appréciables sauf pour l'acide urique. Le méconium des mâles est légèrement plus riche que celui des femelles.

VI. — LE PHOSPHORE

Le phosphore est un des éléments fondamentaux de la matière vivante, puisqu'il entre dans la constitution des principes immédiats appartenant aux trois grands groupes des composés organiques naturels : lipides, glucides et protides. On les trouve dans les tissus sous les formes les plus diverses : phosphates minéraux, glycéro-phosphates, éthers phosphoriques des sucres, lécithines, protides phosphorés.

L'étude du phosphore se place donc, au point de vue physiologique, entre les deux grandes phases que nous avons considérées pendant la nymphose : il se rattache, d'une part à la phase plastique comme constituant cellulaire et d'autre part à la phase énergétique comme catalyseur de nombreuses réactions.

Historique

Un seul travail, à notre connaissance, concerne l'étude du phosphore chez les Insectes : c'est celui de M^{lle} Chevallard, paru en 1928, sous le titre de *Etude chimique du Ver à soie*.

L'auteur dose le phosphore total par la méthode de Posternak, après avoir détruit les insectes tantôt par voie sèche, tantôt par voie humide, et elle arrive à la conclusion suivante : « La teneur en phosphore est assez variable ; très faible dans le cocon, elle devient égale et même supérieure à 1 0/0 (un gramme pour cent) dans la chrysalide, le papillon et les œufs. Ces teneurs sont rapportées au poids de tissus secs.

Recherches Personnelles

Technique utilisée

Après l'essai d'un grand nombre de techniques et avoir expérimenté longtemps la méthode de Neumann-Gregersen, modifiée par Machebœuf, nous nous sommes arrêtés à la méthode de l'Ecole Américaine Bell et Doisy, modifiée et perfectionnée par Briggs.

Nous avons cherché à trouver dans le choix de notre méthode la possibilité d'effectuer un grand nombre de dosages suffisamment précis pour que nos résultats soient comparables entre eux et nous permettent de saisir une variation d'ordre physiologique. Les chiffres que nous donnons dans ce travail expriment tous la moyenne d'un grand nombre de résultats — huit ou dix au minimum — ce qui justifie le choix de notre technique.

1° *Destruction des tissus.* — De l'avis général des auteurs la destruction par voie humide (surtout en ce qui concerne le phosphore) doit être préférée à la destruction par voie sèche.

Les destructions étaient pratiquées sur des tissus frais dont la prise d'essai variait de 2 à 4 grammes.

Les tissus étaient pesés dans une capsule tarée à la précision du dixième de milligramme, puis finalement broyés pour être introduits dans un ballon Kjeldahl en verre Pyrex.

On laissait le broyat en contact avec dix centimètres cubes d'acide nitrique pur et concentré pendant toute une nuit.

Le lendemain, on ajoutait deux centimètres cubes d'acide sulfurique pur et on commençait la chauffe par un feu très doux, le col du Kjeldahl incliné comme de bien entendu. Pendant tout le dégagement des vapeurs nitreuses, on doit éviter la surchauffe ; la liqueur devient claire, brunit ensuite, allant même jusqu'à une teinte franchement noire : on laisse alors refroidir un peu et on ajoute avec beaucoup de précautions un peu d'acide nitrique et on continue le chauffage modéré pendant plusieurs heures. La fin de la destruction est marquée par la décoloration complète du mélange.

On laisse refroidir ; on ajoute deux à trois centimètres cube d'eau et on porte à l'ébullition pour éliminer les traces d'acide nitrique et rester en milieu sulfurique.

Il ne reste plus qu'à étendre à un volume connu la liqueur ainsi obtenue pour effectuer le dosage.

Nous nous sommes assurés que la destruction n'amenait pas de pertes de phosphore comme l'avait dit Baumann. Pour cela nous avons imaginé et fait construire l'appareil suivant : à un ballon Kjeldahl en verre Pyrex, on adapte un

bouchon rodé — également en Pyrex — et surmonté d'un tube s'adaptant à un réfrigérant descendant ; les vapeurs de la destruction sont condensées et recueillies jusqu'à la fin de la destruction : *le phosphore dosé dans la solution ainsi obtenue s'y trouve à l'état de traces inappréciables.*

2° *Dosage proprement dit. — Méthode de Briggs.* — *Principe* : On ajoute au liquide à titrer une solution d'acide molybdique ; il se forme un acide phospho-molybdique jaune qui est réduit en sous-oxyde de molybdène par addition d'hydroquinone et de sulfite de soude ; la couleur du complexe ainsi formé est bleue et proportionnelle à la quantité de phosphore mis en jeu.

Nous employons comme solution-étalon une solution de phosphate monopotassique ($\text{PO}_4\text{H}^2\text{K}$) anhydre à 0 gr. 0438 grammes par litre telle que 1 cmc. corresponde à 1/100 de milligramme de phosphore exprimé en ion phosphore.

La zone de coloration optima est comprise entre cinq millièmes et un centième de milligramme pour un volume total de la solution ne dépassant pas quatre centimètres cubes.

Parallèlement au dosage de phosphore total nous avons effectué celui du phosphore minéral ; la méthode Briggs permet de ne doser que le phosphore dit « minéral » ou acido-soluble, c'est-à-dire la portion passant dans le filtrat d'une défécation à l'acide trichloracétique à 20 0/0. Nous tenons à spécifier que les tissus broyés ont été immédiatement stabilisés au moyen de l'acide trichloracétique pour éviter l'action des phosphatases.

Phosphore total chez la larve

Notre travail concernant surtout la biochimie de la nymphe, nous n'avons établi qu'un nombre relativement restreint de chiffres chez la larve.

Nous avons dosé le phosphore total chez l'*Attacus Pernyi* à différents âges.

(teneur exprimée en grammes pour 1.000 grammes de tissus frais)				
Espèces	2 ^e âge	3 ^e âge	4 ^e âge	5 ^e âge
<i>Attacus Pernyi</i>	2,70	2,78	2,80	2,30
<i>Saturnia Pyri</i>	2,45	2,50	2,60	2,29
<i>Saturnia Pavonia</i>	2,00	2,00	2,25	1,95
<i>Sphinx Ligustri</i>	2,10	2,25	2,75	2,50

Il ressort de l'examen de ces chiffres un phénomène assez curieux : la teneur en phosphore qui croît parallèlement au poids de la larve s'arrête brusquement et nos résultats indiquent même une légère baisse si on les rapporte à un poids de tissus frais.

Nous tenons à faire remarquer que cette observation curieuse a été faite sur deux espèces d'insectes bien différents : *Tenebrio Molitor* et *Galleria Mellonella*, et relatée dans la thèse récente de Georges Tessier (février 1931).

Cette chute de la teneur en phosphore coïncide avec ce que l'on appelle couramment la crise de métamorphose, époque qui commence peu après la dernière mue et pendant laquelle il semble se passer un travail chimique intense au sein de la chenille.

En quoi consiste cette activité interne ? En une double opération dont certaines phases coexistent dans le temps et l'espace :

1° Une dissociation suivie de l'utilisation d'un certain nombre de constituants organiques (lipides, eau, azote protéique, phosphore...) ;

2° Une nouvelle élaboration ou réédification de ces divers éléments au début de la vie nymphale.

Cette « rénovation » chimique est complétée d'ailleurs par une réédification cellulaire ainsi qu'en témoigne l'étude histologique pendant cette même période : le nombre des éléments figurés du sang (lymphocytes en général) augmente considérablement, signe évident d'une formation de protoplasme et de tissus cellulaires nouveaux. Nous pensons qu'il ne faut voir là que la concomittance de deux phénomènes sans en tirer de conclusion.

Phosphore total chez la Chrysalide

Nous avons suivi la teneur en phosphore total des chrysalides d'octobre à mai, et nous avons observé que cette teneur reste élevée et constante pendant toute la durée de la nymphose.

Nous avons établi au début de ce travail la variation du coefficient d'hydratation des tissus pendant la vie nymphale et il en résultait que, si les chrysalides étaient placées dans des conditions d'humidité et de température aussi égales que possible pendant toute la nymphose, ce coefficient varierait peu jusqu'au jour de l'éclosion : c'est pourquoi nous pouvons rapporter nos résultats à 1.000 grammes de tissus frais.

Phosphore total

(en grammes pour 1.000 grammes de tissus frais)

	Oct.	Nov.	Déc.	Janv.	Fév.	Mars.
<i>Sphinx Ligustri</i>	2,56	2,66	2,60	2,59	2,60	2,61
<i>Attacus Pernyi</i>	2,30	2,25	2,29	2,30	2,32	2,29
<i>Saturnia Pyri</i>	2,32	2,30	2,27	2,25	2,25	2,30
<i>Saturnia Pavonia</i>	2	1,90	1,98	2,02	2,15	1,95

Si l'on compare ces teneurs à celles de quelques invertébrés, par exemple, il en résulte que les lépidoptères se révèlent comme des organismes riches en phosphore et remarquablement constants. Sans doute nous opposera-t-on que cette fixité n'a pas la rigueur mathématique qu'on pourrait exiger de phénomènes relevant des sciences physiques. Mais il ne faut pas oublier que les réactions vitales ne sont pas compatibles avec l'idée d'absolu et là, plus que partout ailleurs, il faut introduire la notion de relativité. On peut dire seulement que l'ensemble des résultats obtenus diffèrent peu les uns des autres et que cette différence n'est pas assez sensible pour qu'elle prenne la valeur d'une variation d'ordre physiologique.

On sait que chez les Insectes le tissu adipeux joue un rôle particulièrement important et qu'on lui attribue une sorte de fonction adipogénique analogue au point de vue

lipides à la fonction glycogénique du foie pour les glucides chez les Vertébrés supérieurs. Or, il semble établi, d'après les travaux de Loew, que la combustion des corps gras est en relation étroite avec la présence catalysante du phosphore. Il nous a donc paru intéressant de suivre cet élément à travers le travail chimique incessant de la vie nymphale.

Le tableau précédent a démontré comme il fallait s'y attendre, la stabilité de l'élément « Phosphore total » chez la chrysalide, et il n'y a là rien que de très naturel chez un être dépourvu de relation avec le milieu extérieur. Nous avons donc pensé qu'il devait être bien de substituer dans la recherche le « qualitatif spécifique » au « quantitatif total » et de suivre les variations du métalloïde sous un certain état particulier : le **phosphore minéral**.

Nous en avons suivi la teneur des nymphes d'octobre à mars, et nous avons constaté une variation très nette s'établissant dans le sens d'une augmentation pendant l'hystolyse et d'une légère diminution pendant la reconstitution des tissus de l'Imago.

Voici nos résultats exprimés en grammes par 1.000 grammes.

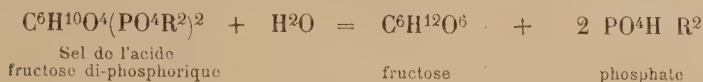
VARIATION DU PHOSPHORE MINÉRAL EN FONCTION DE L'ÉPOQUE
DE LA NYMPHOSE

	Sept.-Oct	Nov.	Déc.	Janv.	Fév.	Mars
<i>Sphinx Ligustri</i>	0,350	0,480	0,650	0,900	0,780	0,650
<i>Attacus Pernyi</i>	0,340	0,575	0,771	0,870	0,780	0,653
<i>Saturnia Pavonia</i>	0,275	0,475	0,645	0,799	0,680	0,545
<i>Saturnia Puri</i>	0,297	0,591	0,756	0,963	0,825	0,600

L'examen de ces nombres montre que le phosphore minéral se libère des combinaisons protéïdiques dans une première phase, pour rentrer ensuite lors de la formation de l'imago.

Ceci ne peut s'expliquer que par l'intervention d'une diastase agissant sur les composés phosphorés organiques : on connaît l'action des phosphatases qui hydrolisent les molé-

les en mettant en liberté les phosphates minéraux suivant la réaction :



On voit combien cette intervention peut être importante, le glucide mis en liberté est utilisé comme source d'énergie et les phosphates libérés rentrent ensuite dans de nouvelles molécules quand les tissus imaginaires se forment.

Nous étudierons plus amplement l'action de cette diastase dans la partie de ce travail réservée aux ferments.

Phosphore total chez l'Imago

La vie de l'adulte est courte si on la compare à cette longue période « en vase clos » durant laquelle s'est édifié lentement l'animal coloré, mouvant, admirablement léger qu'est le papillon !

A quoi serviront ces quelques jours de vie intense à l'être qui, selon la phrase célèbre, semble « naître pour mourir » ?

Nous citons ici le texte de Pérez :

« L'imago est un organisme essentiellement reproducteur. Toutes ses fonctions sont subordonnées à la formation des produits sexuels, à l'accouplement, à la ponte ; et, pour ainsi dire, vieilli au moment où il se constitue, cet organisme sexué meurt après l'accomplissement de ces fonctions prépondérantes. »

Nous avons donc essayé de suivre dans ses différentes phases la vie de l'Imago ; nous y avons dosé le phosphore total et nous sommes arrivés au résultat suivant :

Teneur en phosphore total des adultes
(exprimée en grammes pour 1.000 grammes de tissus frais)

Teneur d'une femelle à l'éclosion.....	2,32 gr.
Teneur d'une femelle à la fin de sève (après perte de son méconium)	2,10 gr.
Teneur des œufs	1,90 gr.
Teneur du mâle à l'éclosion	3,70 gr.
Teneur du mâle après fécondation.....	0,912 gr.
Teneur du liquide fécondant.....	2,71 gr.

On voit à l'examen de ces chiffres que la teneur en phosphore total est élevée chez l'adulte et que la plus grande partie de ce phosphore est contenue pour les deux sexes dans les produits génitaux.

Nous avons établi d'autre part la teneur en phosphore minéral de ces adultes pris à l'éclosion.

<i>Teneur en phosphore minéral des adultes</i> (exprimée en grammes pour 1.000 grammes de tissus frais)		
	Mâle	Femelle
<i>Sphinx Ligustri</i>	0,284	0,650
<i>Attacus Pernyi</i>	0,225	0,400
<i>Saturnia Pavonia</i>	0,348	0,683
<i>Saturnia Pyri</i>	0,275	0,401

Conclusions

Nous pouvons résumer en quelques lignes les résultats que nous avons obtenus :

1° La teneur en phosphore total est élevée et constante pendant toute la durée de la nymphose ;

2° Le phosphore minéral se libère des combinaisons organiques pendant la phase d'histolyse pour rentrer en suite en des complexes protidiques lors de la formation de l'Imago ;

3° Chez l'adulte, le phosphore minéral est à un taux plus élevé chez la femelle que chez le mâle ;

4° Le phosphore total, très abondant dans les deux sexes, semble être presque entièrement contenu dans les produits génitaux.

BIBLIOGRAPHIE

(Phase plastique)

- BATELLI et STERN. — Untersuchungen über die Urikase in den Tiergeweben. *Biochem.* 2, 1909, XIX, p. 249-253.
- BENEDICT (St.-R.) et OSTERBERG (E.). — Studies in creatine and creatinism-metabolism. *Journ. of. Biol. Chem.*, 1923, t. LXI, p. 229.
- BELL (R.-D.) et DOISY (E.-A.). — Rapid colorimetric methods for the determination of phosphorus in blood. *Journ. of biol. chem.*, 44-55-67.
- BISHOP, BRIGGS et ROUZONI. — Body fluids of the Honey-bee larva. Chemical constituents of the blood and their osmotic effects. *Journ. biol. chem.* 66, 1926, p. 77-88.
- BOINOT et KAHANE (Th.). — Dosage de l'arginine dans les protides purs et les tissus par la méthode de Jansen modifiée. *C. R. Ac. des Sc.*, 1927, t. CLXXXIV, p. 246.

- BOIVIN. — Recherches sur le dosage de l'acide urique par micro-analyse en présence de bases. *Bull. Chim. Biol.*, t. IX, janvier, n° 1, p. 10.
- BURNS (David). — On the precursor of creatine in chick muscle. *Biochem. Journ.*, 1916, t. X, p. 263.
- COPAUX. — Procédé rapide pour doser l'acide phosphorique. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXIII, p. 636, 1921.
- CRISTOL (Dr P.). — Etude de la désalbumination du sang. Dosage de total non protéique (librairie Maloine).
- CUÉNOT. — L'excrétion. In *Traité de Physiologie normale et pathologique*, publié sous la direction de Roger, t. III, p. 317-339, 1928.
- DAVIDOVITCHO. — Contribution à l'étude de l'azote résiduel du sérum sanguin. *Thèse de Méd.*, Montpellier, 1925.
- DAVY. — Note on the excrements of Insects. *Edinburgh Na. Philoso. Journ.*, t. XL, p. 231-234, 1846.
- DELAUNAY (H.). — Contribution à l'étude du rôle des acides aminés dans l'organisme animal. *Thèse de médecine*, Bordeaux, 1909-1910.
- Recherches biochimiques sur l'excrétion azotée des invertébrés. *Thèse*, Faculté Bordeaux, 1927.
- Sur l'excrétion azotée des poissons. *Soc. Biol.*, t. CI, 1929, VI, 19, Bordeaux.
- DENIGÈS. — Dosage du phosphore total. Méthode. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, p. 875, 1921.
- FOSSE (R.). — Analyse quantitative gravimétrique de l'urée. *C. R. Ac. des Sc.*, t. CLVIII, 1914.
- Présence de l'urée chez les invertébrés et dans leurs produits d'excrétion. *C. R. Ac. des Sc.*, t. CLVII, 1913.
- Recherches sur le mécanisme de la formation de l'urée. *Bull. Soc. chim. Biol.*, t. II, 1920.
- Origine et distribution de l'urée dans la nature. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXX, 1916.
- GREEWALD. — The estimation of non protéin nitrogen in blood. *Journ. of Biol. Chem.*, 1918, t. XXI, p. 61-68.
- GREEWALD et MAC QUIRE (G.). — The estimation of tinine and in the blood. *Journ. of biol. chem.*, 1918, t. XXXIV, p. 103-118.
- GRIGAUT (A.). — Méthode colorimétrique de Grigaut pour le dosage de l'acide urique. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, 1920, p. 1273; *Bull. Soc. Chimie*, C. 1922, t. IV, p. 11-22.
- HINGLAIS (Mlle Marguerite). — Contribution à l'étude de la répartition du phosphore dans les organes des divers vertébrés. 1^{re} thèse, n° 131, Paris, 1928, n° 207.
- JAZEWSKA (M.). — Les changements de la teneur en tryptophane au cours du développement des mouches *Musca vomitoria*. *C. R. Soc. Biol.*, 1926, t. XGV, p. 910-912.
- KAHANE (Th.) et BOINOT (A.). — Recherches sur les variations des équilibres des constituants cellulaires. Techniques. *Annales de Physiologie*, 5 déc. 1928, t. IV.
- KENNAWAY. — The estimation of non-protéin nitrogen in blood by a micro-kjeldahl method. *Biochem. Journ.*, 1921, t. XV, p. 510-512.
- LAUNAY. — Technique pour suivre la marche de la protéolyse sur un milieu gélatine-trypsine. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXI, p. 712, 1918.
- LEMELAND. — Modifications de la méthode de Neumann Gregersen sur le dosage du phosphore total. *Bull. Soc. Biol.*, t. III, n° 4, 1921.
- Etude critique de la méthode de Kumagava et Suto. *Bull. Soc. Ch. Biol.*, t. IV, p. 300, 1922.
- Observations sur le dosage du phosphore lipoidique total dans les tissus. *Bull. Soc. Ch. Biol.*, 1922, t. IV, n° 2, p. 119.

- LOEB. — The salts required for the developpement of insects. *Journal Biolog. Chem.*, XXIII, 431-434.
- LUCIANI et LO MONACO. — L'accroissement progressif en poids et en azote de la larve du ver à soie par rapport à l'alimentation nécessaire dans les âges successifs. *Arch. Ital. Biol.*, XXVII, 340-349.
- MARCHAL. — Contribution à l'étude de la désassimilation de l'azote. L'acide urique et la fonction rénale chez les invertébrés. *Mém. Soc. Zool. France*, t. III, 1889; *Thèse médecine*, Paris, 1889.
- MARTENS. — Considération sur le dosage séparé des acides aminés et des polipeptides dans les produits de digestion de la matière protéique. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1^{er} mars 1927.
- MILLOT. — Le pigment purique chez les vertébrés inférieurs. *Bull. Biol. France et Belgique*, t. LVII, 1932.
- MORRIS et MACLEOD. — Estimation of uric acid. *J. Biol. Chem.*, t. L, 1922.
- NEUMANN. — *Ztschr. f. Physiol. Chem.*, XXXVII, p. 115, 1902-1903.
- PETITAEAN. — Remarques sur les manipulations préparatoires au dosage des acides aminés dans le sang. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1922, II, 108-114.
- PLIMMER (R.-H.-A.). — The metabolism of organic phosphorus compounds. Their hydrolysis by the action of enzymes. *Biochem J.*, 1913, VII, 43-71.
- POSTERNAK. — Notes sur la variation de la composition du phosphomolybdate d'ammonium. *C. R. Ac. des Sc.*, 1920, t. CLXX, p. 930.
- BREGL. — La micro-analyse quantitative. *Traduction Nicloux*.
- PRZYLECZI. — I. Présence de l'urée chez les invertébrés. *Arch. Inst. Physiol.*, t. XX, 1922.
- II. L'excrétion ammoniacale chez les invertébrés dans les conditions normales et expérimentales. *Ibidem*, t. XX, 1922.
- III. Le rôle de l'ammoniaque dans la dégradation des protéiques. *Ibidem*, t. XXIV, 1925.
- IV. La répartition et la dégradation de l'acide urique chez les invertébrés. *Ibidem*, t. XXVII, 1926.
- RONCHÈSE. — Méthode de dosage de quelques composés azotés. *Thèse pharmacie*, Paris, 1908.
- SEMICHON. — Signification des réserves azotées du corps adipeux des larves d'insectes. *Bull. Soc. Entom. de France*, 1913, 435-436.
- SIRODOT. — Recherches sur les sécrétions chez les insectes. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, 1899.
- SLYKE (D. Van). — The present significance of the amino-acide in physiology and pathology. *Arch. Int. Méd.*, t. XIX, 1917.
- TESSIER (G.). — Recherches morphologiques et physiologiques sur la croissance des insectes. *Thèse Paris*, 1930.
- WINTERSTEIN. — Handbuch beichenden Physiologie de Winterstein, Bd II, 2^o Heft, 1924, p. 259-900.
- Die excretion (Burian, Strohl, Ehrenberg et Noel).
- WIGGLESWORTH. — Uric acid in the Pieridae a quantitative study. *Proc. R. Soc. London*, B. 97, 1924, p. 149.
- Digestion in the Cockroach. The digestion of proteins and fats. *Proc. R. Soc. London*, 22, 150-161.
-

CHAPITRE TROISIÈME

PHASE ÉNERGÉTIQUE

GÉNÉRALITÉS

Nous voici arrivés au point où l'on peut en quelque sorte établir le bilan du travail fourni (pour reprendre la comparaison dont nous avons fait usage à nos débuts) par cette « machine » thermo-chimique qu'est un lépidoptère en nymphose.

Ce travail, nous l'avons vu, est extraordinaire. Si l'on veut bien, en esprit, rapporter aux animaux supérieurs et même à l'homme ce qu'est pour l'insecte cette dissociation, cette dégradation de sa propre substance suivie de cette élaboration nouvelle, véritable « renaissance » à l'orée d'une seconde vie, comment en concevoir les possibilités alors qu'il ne semble demeurer sous les fils soyeux, ou la gaine brunâtre de la chrysalide qu'un être dépourvu de vie ?

Et pourtant, ce ne sont là que vaines apparences, signes extérieurs trompeurs.

Par la vapeur d'eau qui s'en échappe, par les quelques volumes de gaz carbonique qu'elle rejette, la nymphe nous prouve qu'elle est encore vivante.

Vie ralentie, semble-t-il ? L'étude de l'évolution des matières azotées au chapitre précédent nous a montré de quelle nature étaient les manifestations de cette « existence en vase clos ».

Il vient peut-être à l'esprit de comparer la « chrysalidation » à l'hibernation de certains animaux supérieurs (marmottes, par exemple), qui se réveillent d'un long sommeil

après avoir vécu plusieurs mois sur les réserves accumulées en belle saison.

Maïs ce n'est là qu'un type un peu spécial d'un métabolisme courant avec une consommation réduite appliquée à des besoins minima : tel l'animal s'endort à la fin de l'automne, tel il se réveillera au début du printemps sans qu'aucune modification quelconque n'ait apparue.

Chez l'insecte, au contraire, il n'est pas un organe, pas un tissu qui ne subisse à l'abri du cocon un presque total remaniement.

Qui fournit à l'animal et la matière nutritive dont il va « vivre » pendant 6 mois et le « combustible » qui joint à l'action « lubrifiante » des diastases, soutiendra son énergie destructive et constructive ?

Il faut, laissant à la phase plastique le groupe des protides, qui lui appartient en propre, chercher dans les deux grands groupes voisins la solution du problème ; et c'est à l'étude des lipides et des glucides aux molécules condensées si riches en carbone, que nous allons maintenant consacrer les pages de cette « phase énergétique ».

LES LIPIDES

Historique

L'étude des matières grasses des Lépidoptères a fait l'objet d'un certain nombre de travaux. Et tout d'abord, il faut citer ceux de Tichomirow, en 1885, qui étudie spécialement la teneur en corps gras des œufs du Bombyx Mori avant ou après l'hivernage.

Voici les résultats trouvés par cet auteur :

<i>Teneur en substance soluble dans l'éther</i>	
1° Œufs n'ayant point passé l'hiver :	
Cholestérol	0,40 %
Lécithine	1,04 %
Graisses	8,08 %
2° Œufs mis en incubation :	
Cholestérol	0,35 %
Lécithine	1,76 %
Graisses	4,42 %

Au cours du développement de l'œuf du Bombyx Mori, on peut constater dans une première période, une teneur en corps gras totaux très élevée, soit environ 9,50 0/0. Cette teneur diminue d'une façon notable pendant l'incubation, aux environs de 6,53 0/0 et semble se relever un peu au moment de l'éclosion.

Le cholestérol reste sensiblement constant et les lécithines augmentent.

Bataillon et Couvreur en 1892, Vaney et Conte en 1906, Vaney et Maignon en 1908, Kotaka et Séra en 1908, se sont attachés à établir la teneur en substances grasses des différents états du Bombyx Mori : l'œuf, la chrysalide, le papillon.

1° L'œuf :

En 1906, dans leurs *Recherches sur le développement de l'œuf univoltin du ver à soie*, Vaney et Conte se sont occupés de cette question.

Ces auteurs divisent le développement de l'embryon en trois périodes, correspondant à des modifications histologi-

ques et physiologiques s'accompagnant de phénomènes chimiques.

Nous résumons rapidement ici leurs résultats :

Première période : Constitution de la bandelette germinative ; teneur en corps gras totaux : 7,30 0/0 ;

Deuxième période : Vie latente et hibernation : au début, 6,68 0/0 ; à la fin, 4,88 0/0 ;

Troisième période : Edification embryonnaire, 4,39 et 4,58 0/0.

Ces auteurs arrivent aux mêmes conclusions que celles de Tichomiroff.

2° Graisses dans le ver et la chrysalide

Dubois et Couvreur en 1901, Vaney et Maignon en 1906, ont étudié les variations de la teneur en graisses avec le sexe et au cours de l'évolution. Ils employaient une technique très simple :

Après trituration des individus pesés, la bouillie était mise à macérer pendant 24 heures dans l'éther. La solution éthérée était évaporée.

Ils concluent que les mâles renferment toujours plus de graisse que les femelles, la proportion pouvant être de 1 à 4, pendant l'acte de l'accouplement, la consommation en graisses est très intense chez le mâle.

Les auteurs ont constaté une disparition progressive des corps gras pendant toute la nymphose, la consommation étant surtout intense au début et à la fin de cette période.

Au moment de l'éclosion, on voit la quantité de graisse s'élever considérablement, ce qui ne peut s'expliquer que par une élaboration nouvelle de cette substance.

Dans un travail plus vaste et plus spécialement statique, Timon-David, en 1929, a établi les propriétés des corps gras des lépidoptères. Il ne s'est pas occupé de la variation de ces substances, ni du rôle physiologique qu'elles peuvent jouer au cours de la nymphose ; mais il a établi les propriétés physiques des substances grasses de quelques espèces qui nous intéressent particulièrement. C'est pourquoi nous relevons

dans ce travail ce qui peut éclairer le domaine de la physiologie.

Il classe la larve d'*Attacus Pernyi* dans les larves à rendement très faible, c'est-à-dire renfermant environ 1 0/0 de graisses et la larve de *Saturnia pyri* à rendement plus important : 4,03 0/0 du tissu frais.

Ces lipides sont des huiles à indices d'iode très élevés, correspondant aux huiles siccatives.

Saturnia pyri : indices d'iode, 164,5.

Attacus pernyi : Indices d'iode, 140,5.

Ces indices permettent de rapprocher les corps gras des lépidoptères de ceux des animaux marins (huile de foie des sélaciens), et les chenilles précitées sont parmi tous les insectes étudiés par Timon-David, celles qui fournissent le pourcentage le plus élevé en substances insaponifiables.

Les auteurs italiens Menozzi, Moreschi, puis Lewkowitch ont identifié les divers composants de cet insaponifiable.

Ils en ont extrait un autre stérol, peu différent du cholestérol connu chez les mammifères et qu'ils ont appelé « *bombycestérol* ». La séparation d'un produit à l'état pur apparaît très laborieuse, parce que le reste de la portion insaponifiable du corps gras brut, s'est montré être un mélange d'au moins quatre substances, dont deux sont des Hydrocarbures du groupe de la paraffine.

M^{lle} Chevallard, en 1928, a donné un travail sur les propriétés physiques des stérols de l'insaponifiable extrait des corps gras totaux du *Bombyx mori*.

Nous résumons succinctement les résultats apportés par ce travail :

« Pour purifier la substance du groupe du cholestérol, après quelques essais nous avons procédé ainsi : le produit brut représentant l'ensemble de l'insaponifiable et traité par de l'alcool à 70° bouillant ; dans cet alcool aqueux et chaud, le composé cholestérolique se dissout encore beaucoup, tandis que les hydrocarbures ne se dissolvent qu'à l'état de traces.

« On sépare soigneusement la portion alcoolique qui contient le produit cholestérolique, le séparant ainsi des hydrocarbures dont on veut faire une étude. »

M^{lle} Chevallard fait alors un travail minutieux sur le produit cholestérolique afin de mettre en évidence ses propriétés cristallographiques. Elle arrive à la conclusion suivante :

Que les substances du groupe du cholestérol contenues dans les chrysalides de vers à soie, s'avoisinent au cholestérol des animaux supérieurs, mais ne s'identifient pas avec lui. Il semble qu'à côté du cholestérol vrai, il existe un isomère auquel on donne le nom de bombycistérol de formule $C^{27}H^{46}O - H^2O$.

La deuxième portion de substances insaponifiables est insoluble dans l'anhydride acétique et, par conséquent contient des hydrocarbures.

Shall, en 1893, identifiait déjà l'undécane chez *Formica rufa*, et Menozzi et Moreschi, établissaient la présence d'un carbure de formule $C^{28}H^{56}$ chez le *Bombyx mori*.

RECHERCHES PERSONNELLES

Techniques utilisées

Pour tous nos dosages des corps gras, nous avons employé la méthode de Kumagawa-Suto.

Cette méthode a l'avantage de donner la totalité des acides gras, plus les substances insaponifiables. Nos dosages ont porté surtout sur des chrysalides, c'est-à-dire sur des organismes dont les tissus sont en voie de démolition. Dans ce cas, l'extraction des substances grasses n'a pas nécessité une lixiviation au Soxhlet par l'alcool.

Voici comment nous avons opéré :

Après avoir pesé l'insecte, sous l'une quelconque de ses formes (nous opérons sur 5 grammes de tissus frais environ), nous la triturons avec de la soude diluée et la saponification se faisait dans un bécher Pyrex couvert afin d'éviter l'évaporation.

Pour 5 grammes de tissus il fallait :
; 5 cmc. H²O distillée ; 15 cmc. NaOH à 36° B.

On porte le tout à l'ébullition pendant plusieurs heures. La solution refroidie est mise dans une ampoule à décantation. On lave soigneusement le récipient à l'eau chaude, et toutes les eaux de lavage sont réunies. Après refroidissement, on acidifie le contenu par de l'HCl au quart (3 vol. d'H²O, un vol. HCl), jusqu'à réaction légèrement acide au tournesol.

Il faut environ 50 cmc. de la solution chlorhydrique. On pratique alors une première extraction en ajoutant un égal volume d'éther. On agite longuement.

La première solution éthérée colorée en jaune or, est décantée. Dans la boule il reste un précipité noirâtre qui contient encore des acides gras. On ajoute à ce précipité 5 cmc. de soude. Il se dissout et on vérifie que la solution est encore acide. On pratique alors une deuxième extraction avec 30 cmc. d'éther.

Les solutions éthérées sont distillées au bain-marie ; le résidu est repris par l'éther sec (redistillé sur sodium). On filtre sur un entonnoir dont la douille est garnie de coton hydrophile lui-même lavé à l'éther. On lave à l'éther sec ; le résidu évaporé est séché à l'étuve à 50°. Puis, on le reprend par 20 cmc. d'éther de pétrole. On refiltre, on évapore, et on sèche à l'étuve jusqu'à poids constant.

On obtient ainsi le poids des *acides gras* plus les *substances insaponifiables*.

Sur cet extrait des corps gras nous avons séparé les substances insaponifiables par l'éther de pétrole après saponification des acides gras par la potasse alcoolique.

Nous avons toujours employé comme solvant l'éther de pétrole de préférence au benzène, la distillation de celui-ci se faisant à une température supérieure à 50°. Ceci présente une importance pour l'étude ultérieure des substances insaponifiables.

Rappelons que cet insaponifiable a une consistance pâteuse jaune orangé à odeur rappelant celle des huiles de poissons. Le pigment est vraisemblablement un carotène associé à la chlorophylle.

Il eût été intéressant de faire intervenir dans cette étude la notion introduite par Mayer et Schoeffer, puis par Terroine et Abderhalden, à savoir : l'étude des graisses protoplasmiques, opposées aux graisses de réserves.

L'épuisement d'un tissu par un solvant fournit une quantité plus ou moins considérable de corps gras. La saponification du résidu de l'épuisement contient encore une proportion variable d'acides gras.

Ce procédé, pour séparer les graisses de réserve des graisses protoplasmiques est un peu arbitraire.

D'autre part, la quantité limitée d'un matériel rare et coûteux, ne nous permettait pas de pousser plus avant les séparations.

Ce qui justifie le choix de notre technique.

Dosage du cholestérol. — Nous avons utilisé la méthode de Windaus. Elle repose sur le fait que le cholestérol forme avec le digitonoside (digitonine) une combinaison insoluble qui peut être soigneusement lavée et pesée. Le poids du précipité multiplié par 0,2431, donne le poids du cholestérol.

Nous avons apporté les modifications de lavage données par Girardin et M^{me} Spach, afin d'avoir une véritable méthode permettant l'évaluation de 0 mgr. 5 à 2 mgr.

L'insaponifiable total étant obtenu sec, est dissous dans 2 cmc. d'acétone pur et sec.

On ajoute : 1 cmc. de la solution de digitonoside à 2 0/0. On chauffe au bain-marie jusqu'à réduction du volume de moitié sans atteindre l'ébullition. On laisse refroidir ; on filtre. Le précipité est soigneusement lavé, par : 8 fois 1 cmc. 5 eau bouillante ; 1 cmc. 5 alcool à 80° ; 1 cmc. acétone ; 1 cmc. éther sec.

Les solvants employés doivent dissoudre l'excès de digitonoside et les substances insaponifiables autres que le cholestérol, mais pas le complexe formé.

Pour recueillir le précipité, nous avons employé les filtres en verre d'Iéna. Ces filtres peuvent être pesés avec une grande précision et sont beaucoup plus commodes que le filtre Joulie avec un papier Durieux.

Nous avons vérifié qu'après plusieurs usages, et un séjour prolongé à l'étuve à 100°, le poids initial du filtre ne variait pas.

MÉTABOLISME DES CORPS GRAS

Entre l'œuf d'insecte, minuscule grain de millet aux quelques milligrammes de lipides et la chrysalide rebondie, garnie de sa carapace de corps gras, quel est aux divers stades de la vie, le processus d'évolution et de développement de cette portion capitale de la trilogie biologique ? C'est ce que nous avons essayé d'éclaircir.

Corps gras chez la larve

Les lépidoptères que nous étudions se classent dans la catégorie des larves « à rendement très faible ». Toutes jeunes, les larves ne renferment que des traces de graisses ; nous n'avons donc pu commencer nos dosages qu'à partir du deuxième âge, époque où la teneur des lipides devient pratiquement appréciable.

Pendant le temps qui s'écoule entre la deuxième et la troisième mue, les graisses suivent une courbe de progression normale et régulière. A la fin du troisième âge, au contraire, et jusqu'au cinquième, le taux s'élève d'une façon toute particulière : en quelques jours on voit la quantité totale passer du simple au double.

Cette observation est en accord avec les résultats observés par Rudolf et publiés en 1927, sur le *Métabolisme des graisses chez Malacosoma Americana*. L'auteur, s'étonnant de cette élévation brusque de la teneur en lipides, a montré qu'elle était très supérieure à la quantité de graisses fournie à l'animal par sa nourriture.

Il faut donc supposer là une formation des acides gras aux dépens des hydrates de carbone et des protides végétaux.

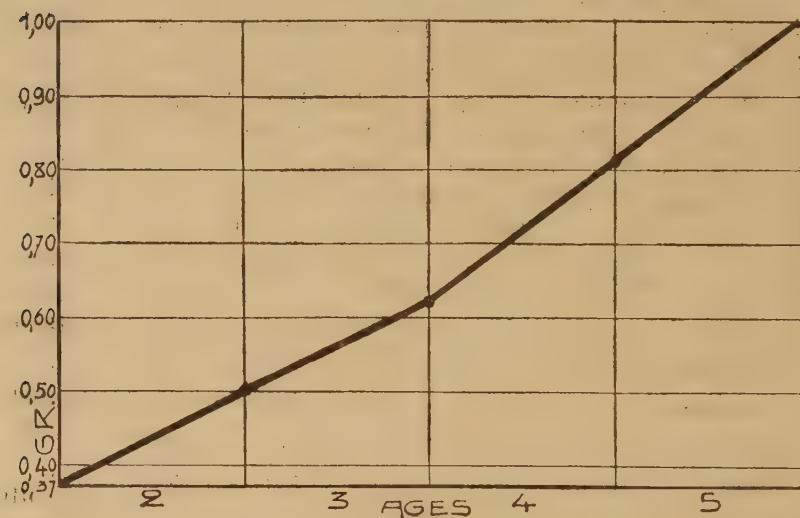
Peu avant la transformation en nymphe, il y a une utilisation d'une partie de ces graisses : en effet, à ce moment, la teneur en eau diminue, les larves baissent de poids et

comme les chiffres de lipides indiquent, eux aussi, une légère décroissance par rapport au poids frais c'est, *a fortiori*, que l'on peut conclure à une consommation de ces produits, consommation qui est de courte durée, puisque peu après la métamorphose, le taux des lipides croît à nouveau.

Parmi les chenilles que nous avons étudiées, *Attacus pernyi* s'est montré être la larve la plus pauvre en corps gras, le *Sphinx* la plus riche, le *Saturnia* tenant une place moyenne.

Voici l'ensemble de nos résultats exprimés en grammes pour 100 grammes de tissus frais :

	<i>Attacus</i> <i>Pernyi</i>	<i>Saturnia</i> <i>Pavonia</i>	<i>Sphinx</i> <i>Ligustri</i>
3 ^e âge	0,37-0,40	1,02	2,20
4 ^e âge	0,62	1,50	4,50
5 ^e âge	0,81	0,49	6,25
Epoque précédant la chrysalidation	0,75	3,90	5,45
Chenille dans son cocon ..	1,00	4,03	6,15



Courbe n° 9. — Evolution des corps gras chez la larve d'*Attacus Pernyi* (teneurs exprimées en grammes pour 100 grammes de tissus frais)

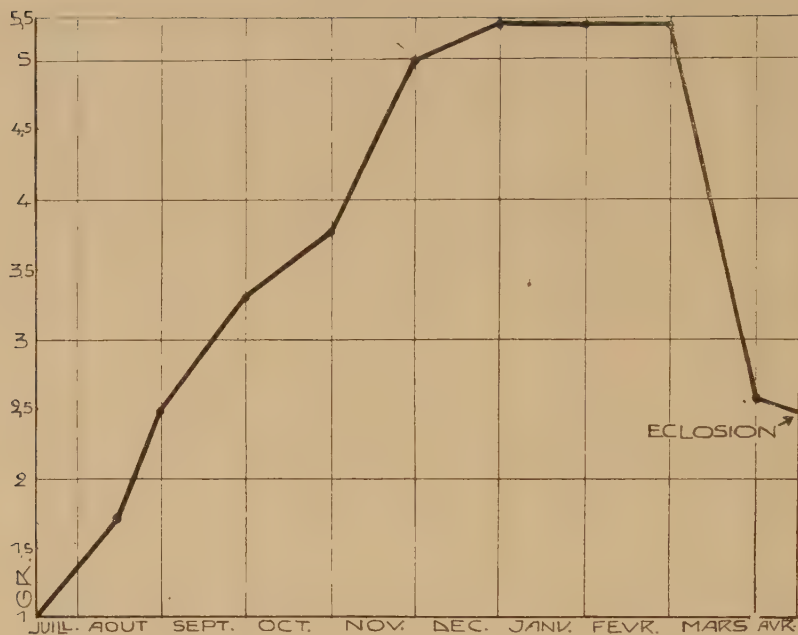
Les corps gras chez la nymphe

Contrairement aux résultats obtenus par Vaney et Maignon sur le *Bombyx mori*, nous n'avons pas trouvé que le taux maximum des graisses était atteint chez les larves à la fin du filage. Après une courte consommation nous voyons le taux des lipides continuer à croître parallèlement aux phénomènes d'histolyse jusqu'au mois de janvier environ et atteindre le taux de 8,42 0/0 de tissus frais chez *Sphinx ligustri*. C'est là, il est vrai, une teneur maxima, les *Sphinx* étant beaucoup plus riches que les autres espèces envisagées. Nos résultats expriment la teneur moyenne de plusieurs chrysalides choisies, pour le dosage, de poids sensiblement voisins.

Quand le taux maximum est atteint, les graisses ne varient plus, ce qui se traduit dans la courbe par un plateau ; puis une consommation progressive nous amène aux quelques jours qui précèdent l'éclosion. Vaney et Maignon observaient à ce moment une élévation nouvelle qui ne s'expliquait que par une nouvelle élaboration de celle-ci. Nous ne sommes pas en accord avec cette observation. Nous croyons plutôt que la baisse de poids considérable qui marque la fin de la vie nymphale explique l'augmentation apparente donnée par des chiffres qui se rapportent à des tissus frais.

Nos résultats expriment la moyenne de tous les dosages effectués par mois de nymphose :

Mois	<i>Attacus Pernyi</i>	<i>Sphinx Ligustri</i>	<i>Saturnia Pavonia</i>	<i>Saturnia Pyri</i>
Octobre	3,37	6,41	3,50	4,03
Novembre	4,64	6,80	4,20	6,50
Décembre	5,04	8,42	5,40	7,43
Janvier	5,12	8,50	6,25	8,19
Février	5,10	7,82	8,30	8,20
Mars	5,20	6,08	6,51	6,75
Avril	2,64	5,25	5,75	6,33
Fin avril (éclosion)			4,80	



Courbe n° 10. Variation des corps gras chez la nymphe d'*Attacus Pernyi* (teneurs exprimées en grammes pour 100 gr. de tissus frais)

Corps gras chez l'adulte

Les adultes naissent avec une teneur élevée en graisses mais inégalement réparties entre les deux sexes. C'est en effet le mâle qui des deux l'emporte en quantité ; mais cette supériorité n'est qu'apparente, elle ne ressort point des tissus constitutifs de l'imago. Si l'on prend soin, en effet, d'expulser les œufs de la femelle adulte avant de pratiquer le dosage, on trouve des chiffres voisins de ceux fournis par l'autre sexe.

On peut à cette occasion noter que la majeure partie des lipides de l'adulte pourrait être dénommée « Lipides génitaux ». Si l'on suit, en effet, comme nous l'avons fait, l'évolution de ces matières grasses au cours de la courte vie de l'imago, on est frappé par leur disparition extrêmement rapide (quelques jours) et quasi-totale (les 4/5).

Cette fonte subite ne semble avoir d'autre origine qu'une consommation active faite par l'individu de substances qui représentent pour lui un potentiel énergétique énorme et ce en vue de l'accomplissement d'un acte qui en exige au plus haut point : l'acte de fécondation.

LES SUBSTANCES INSAPONIFIABLES ET LEUR ROLE PHYSIOLOGIQUE

Nous avons vu dans la partie historique de ce chapitre qu'il est acquis que chez les insectes l'ensemble de l'extraction lipidique contient une certaine proportion d'insaponifiable.

Les auteurs italiens, Menozzi, Moreschi, puis Lewkowitch ont essayé d'identifier le cholestérol extrait de cet insaponifiable. Ils ont ébauché une étude chimique sur les constituants de ce dernier, mais il n'a pas été fait, à notre connaissance, de dosages systématiques sur des insectes à longues métamorphoses et, seuls, quelques chiffres isolés ont été donnés par Timon-David.

Nous nous sommes attaché :

1° A doser cet insaponifiable chaque fois que nous faisons une extraction lipidique totale ;

2° A établir le rapport qu'il occupait en regard des corps gras totaux ;

3° A suivre ce rapport pendant toute l'évolution de l'insecte afin d'essayer d'en tirer quelques remarques physiologiques.

C'est qu'en effet cette portion des corps gras totaux qu'on néglige souvent dans l'étude des graisses, a une signification physiologique primordiale.

L'insaponifiable, en général, comprend :

1° Des hydrocarbures saturés ou non ;

2° Des alcools monoatomiques de la série grasse ;

3° Des alcools cycliques (stérols).

Des stérols, réservés pour un chapitre ultérieur, nous ne parlerons point ici ; mais envisageons du strict point de vue chimique les hydrocarbures et les alcools. Chacun sait

la facilité avec laquelle peut se produire la combustion de ces deux groupes de corps et il n'est pour fixer les idées qu'à se rappeler toute l'importance industrielle que prennent de nos jours pétroles et alcools pour saisir toute la valeur d'un semblable potentiel énergétique.

Or, ces « *dynamogénétiques* », comme on pourrait les appeler, nous en trouvons chez les Insectes, et à défaut du squalène ou du spinacène des Sélaciens, on y note des hydrocarbures saturés comme l'undécane ($C^{11}H^{24}$) et d'autres, de formule $C^{28}H^{58}$.

On entrevoit sans peine quelle ressource précieuse va être pour l'animal à la fois prisonnier de son cocon et travailleur formidable, la présence au sein de ses tissus de semblables sources de chaleur et de force, c'est-à-dire de vie.

Chez la larve, la teneur en corps gras totaux étant peu élevée, les substances insaponifiables accusent une partie importante de l'extraction irrégulièrement répartie entre les espèces et ce sans doute en raison d'utilisations particulières ; c'est ainsi que le Sphinx est plus riche que les divers *Attacus* ou *Saturnia*.

Au cours de la *nymphose*, les substances insaponifiables disparaissent d'une manière générale. C'est à cette période si troublée où l'être s'élabore et se détruit avec une précision et une minutie qui étonnent, que s'épuisent pour ce travail gigantesque les réserves énergétiques sagement accumulées par la larve.

De l'adulte, on peut à peine parler ; naissant avec des traces de substances insaponifiables, il meurt en étant presque entièrement dépourvu de ces éléments chimiques primordiaux, piliers de la dynamique de la métamorphose, et l'élaboration lente suivie de l'utilisation méthodique de ces produits pendant de longs mois ne concourent qu'à une brillante mais combien brève destinée de quelques jours.

Nous réunirons nos résultats dans un même tableau avec ceux du cholestérol, afin que pour une extraction lipidique totale donnée, on puisse mieux comparer et apprécier les différents rapports.

LE CHOLESTEROL

C'est un fait établi par les données classiques que le cholestérol est un élément indispensable et constant de la cellule. On ne l'a jamais considéré comme une substance de réserve. Les travaux de Mayer et Schaeffer ont montré com-

Cholestérol

bien était important le rapport $\frac{\text{Cholestérol}}{\text{Ac. gras totaux}} \times 100$,

qui paraît spécifique d'un organe ou d'un tissu donné et comment ce « coefficient lipocytiqne » joue un rôle important dans les phénomènes d'imbibition.

Dans notre étude des lipides nous avons été amenés tout naturellement à doser cette fraction de l'insaponifiable et nous avons été frappés par la faible teneur qu'elle occupait.

Substances insaponifiables

Alors que le rapport $\frac{\text{Substances insaponifiables}}{\text{Corps gras totaux}}$ est du même

ordre de grandeur que les coefficients lipocytiques signalés chez les Invertébrés, les nymphes étudiées (*Attacus Pernyi*, *Sphinx Ligustri*, *Saturnia Pyri*) ont un coefficient lipocyti- que *dix fois plus faible* que le plus petit coefficient établi chez ces derniers.

Donnons à titre de comparaison quelques exemples :

<i>Hirudo medicinalis</i>	20-25
<i>Ostrea edulis</i>	7,3-22
<i>Tapes decussatus</i>	
<i>Anémone sulcata</i>	
<i>Phascolosoma vulgare</i>	17,5-30
<i>Asterias rubens</i>	8,6-9,2

Mayer et Schaeffer, puis Terroine, n'ont pas tenu compte dans leurs travaux des substances insaponifiables, admettant que la presque totalité de celui-ci était constitué par le cholestérol. Or, la partie non cholestérolique de l'insaponifiable est parfois importante comme l'a montré Lemeland, comme le fait remarquer plus récemment Terroine et comme nos résultats le confirment aujourd'hui.

Recherches Personnelles

Nos dosages ont toujours porté sur 8 à 10 grammes de tissus frais dans lesquels les substances insaponifiables occupaient un poids variant de 30 à 50 milligrammes et le cholestérol de 3 à 7. Pour nous assurer que la faible quantité de tissus frais sur laquelle nous opérons ne modifiait pas les résultats, nous avons fait quelques dosages sur le foie de pigeon et de cobaye, en utilisant 5 grammes de matière fraîche : nos chiffres ont été en accord avec ceux des auteurs classiques.

Il résulte de nos dosages que le cholestérol existe en très faible quantité chez les lépidoptères.

Le coefficient lipocytyque chez la larve jeune s'abaisse au fur et à mesure qu'augmentent les graisses de réserve pour devenir très bas chez la nymphe.

Cet abaissement du rapport $\frac{\text{Cholestérol}}{\text{Acides gras totaux}}$ chez la nymphe des Lépidoptères demande quelques remarques.

Si le coefficient lipocytyque régit l'imbibition d'un tissu, la notion classique se trouve en défaut chez les Insectes : ceux-ci ont en effet un rapport inférieur à 1 pour une teneur en eau voisine de 80 0/0. Mais, pour que ce rapport garde toute sa valeur, il devrait être établi avec les teneurs en corps gras « constitutifs de la cellule » ; les graisses protoplasmiques sont en effet très différentes des graisses de réserve et chez les larves, avant l'accumulation des graisses sous-hypodermiques et dans le corps adipeux — également organe de réserve — les teneurs en corps gras totaux sont peu élevées. On conçoit aisément que dans ces conditions les résultats soient tout différents et comment les chiffres établis peuvent avoir l'aspect de résultats erronés.

Dans leur travail sur « la composition des tissus en acides gras non volatils et en cholestérol », Mayer et Schaeffer ne séparaient pas dans leurs dosages les deux origines lipidiques, mais ils avaient montré que, pour un organe pris

isolément (foie, pancréas), la teneur en substances lipidiques est un « élément constant » chez les individus d'une même espèce et largement indépendant des états de nutrition.

Il en est tout autrement quand on considère un organisme dans sa totalité, surtout au cours de ce phénomène complexe de la métamorphose où l'histolyse aboutit à une véritable dégénérescence grasseuse.

Nous aurions désiré faire la distinction entre les graisses dites « protoplasmiques » et celles dénommées « de réserve ». Or, la seule technique proposée à l'heure actuelle pour cette différenciation chimique repose, de l'avis même des meilleurs biologistes contemporains, sur une conception assez simpliste. Quant à une dissociation basée sur l'histologie, elle nous semble assez délicate et entachée à sa base d'erreurs aussi importantes. Ce n'est donc que munis d'une technique vraiment irréprochable que nous nous attacherons dans l'avenir à résoudre cette curieuse difficulté.

CONCLUSIONS

L'étude des lipides chez les lépidoptères nous a permis d'arriver aux conclusions suivantes :

L'insecte renferme trois sortes de graisses pendant le cycle de sa métamorphose :

1° Les graisses « protoplasmiques », constituants cellulaires existant en quantité infime et élaborés à partir des éléments nutritifs absorbés par la larve ;

2° Les graisses de réserve accumulées dans le corps adipeux de la chenille et dans sa couche sous-hypodermique ;

3° Les graisses d'origine « histolytique », provenant de la dégénérescence des muscles.

De ces trois groupes, le premier seul subit sans changement les divers stades du cycle de la métamorphose.

Les lipides envisagés au deuxième paragraphe semblent avoir une double destination évolutive que l'analyse chimique laisse prévoir sans en préciser l'importance :

1° Une fraction paraît se résorber pour régénérer au

cours de la formation des tissus de l'imago de nouveaux lipides organiques :

2° Le reliquat est détruit par une véritable combustion, libérant ainsi l'énergie qui va servir aux autres transformations de la matière vivante.

Il faut encore citer le rôle de ces corps que la biochimie range aux côtés des lipides : à savoir, les substances insaponifiables possédant un potentiel énergétique plus élevé que les graisses parce que plus riches en carbone ; ils concourent avec ces dernières au même but : rendre possible par leur oxydation le cycle des destructions et des reconstitutions des protéides de la nymphe et de l'adulte.

Enfin, notons pour terminer, que le cholestérol n'est là qu'à l'état de traces. Mais sa présence au sein de lipides qu'on ne peut pas vraiment considérer comme des graisses de constitution a pour résultat de donner au coefficient hypocritique, rapport du cholestérol aux acides gras totaux, une allure anormale ; et ce, par le seul fait qu'il n'est pas encore possible comme nous l'avons vu, de séparer par l'analyse les vrais corps gras protoplasmiques de l'ensemble des lipides chez les Insectes.

BIBLIOGRAPHIE

(Lipides)

- BRINKMANN et VON DAN. — Importance de la cholestérine pour les propriétés physico-chimique de la surface cellulaire. *Bull. Soc. Chim. de France*, 1920, t. XXXII, p. 358.
- DESVERGNES. — Examen d'huile de chrysalides. *Ann. Chim. Analyt. et appliq.*, 80-82, 1920.
- FRASER et GARDNER. — The origin of cholesterol in the animals organisms. *Proceed of the Royal Society*, série B, vol. LXXXII, 1910, p. 559-568.
- GIRARDIN et SPACH. — Microdosage pondéral du cholestérol. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 15 juin 1926, t. VIII.
- GRIGAUT. — Cycle de la cholestérinémie. *Thèse doctorat en médecine*, Steinhell, édit., Paris, 1913.
- LASSEIGNE. — Note sur l'existence d'une huile fixe dans les vers à soie. *Journal Chimie Médicale*, 1844, t. XX, 471.
- LEMELAND et CAMINADE. — Sur quelques modifications apportées au dosage de la cholestérine par la méthode de Windaus. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. IV, n° 10, p. 601, 1922.
- LEWKOWITCH. — Technologie et analyse des graisses, huiles et cires. *Traduction française Em. Boncoux*. Edit. Dunot et Pinat, 1916.
- MAYER et SCHAEFFER. — 1912. Dosage de la cholestérine par les méthodes de Kumagava et Suto et Windaus combinées. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXII, p. 382.

- 1913. La composition des tissus en acides gras non volatils et l'existence possible d'une constante lyoprotique, *C. R. Ac. Sc.*, t. CLVII, p. 487.
- 1913. *Journal de Physiologie et Pathologie générale*, t. XV, p. 1 et la suite.
- TERROINE et WEILL. — *Journal de Physiologie et Pathologie générale*, t. XVI, 1914, p. 415.
- TERROINE et BELIN. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1927, t. IX, p. 1012.
- TERROINE, KOPP et VECHOT. — Sur la signification physiologique des liaisons éthyléniques des acides gras. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928, t. IX, p. 604.
- TIMON-DAVID. — Contribution à la connaissance des graisses d'insectes. *Thèse Paris*, 1930.
- TICHOMIROFF. — 1885. Chemische Studien über die Entwicklung des Insectens.
- TSUJIMOTO. — 1908. 455. *Journal of the Society of Chemical Industry Chrysalis Oil; composition journal coll. engineering. Imp. University, Tokio*, 1908.
- VANEY et CONTE. — 1908. Recherche sur le développement univoltin du ver à soie. *Laboratoire d'étude de la soie*, Lyon.
- UVAROV. — Transaction of the entomological Society of London, 1927.
- WINDAUS. — *Berichte der Deutsch. Chem. Gesellschaft*. B XLVV, 1909, p. 238.

LES GLUCIDES

LE GLYCOGÈNE

Historique

La question du glycogène chez les Insectes a été étudiée dès 1879 par Claude Bernard, après ses remarquables travaux sur la fonction glycogénique du foie. Chez les Insectes il décèle la présence du glycogène dans les tissus de la larve et dans ceux de l'adulte.

Depuis, un certain nombre d'auteurs l'ont dosé dans les différentes formes qu'affectent le Bombyx Mori.

Dans les œufs. — Tichominoff, en 1885, étudie la proportion de glycogène avant et après l'hibernation ; il conclut à une utilisation de ce glucide pendant la vie embryonnaire.

En 1906, Vaney et Maignon ont repris cette étude, qui a été elle-même complétée en 1908 par Vaney et Conte.

Voici les résultats obtenus par ces auteurs :

- 1° OEufs de 4 jours : 2,41 0/0 ;
- 2° OEufs de 7 à 8 jours : 1,25 0/0 ;
- 3° Après hibernation (1 an après la ponte) : 1,84 0/0 ;
- 4° Au moment de l'éclosion : 0,415 0/0.

Conclusions. — Il y a donc comme l'avait indiqué Tichominoff une brusque consommation de glycogène au début de la vie embryonnaire suivie d'une nouvelle élaboration ; enfin, une diminution rapide de cette réserve au moment de l'éclosion.

Chez la larve. — L'étude du glycogène chez la larve du ver à soie est abordée en 1892, par Bataillon, reprise en 1893 par le même Bataillon, et en 1901 par Dubois et Couvreur.

La teneur, d'abord faible, devient importante au moment du filage et atteint son maximum au début de la chrysalidation.

Ces conclusions sont vérifiées à nouveau par Vaney et Maignon, en 1905 et 1906.

Pendant la nymphose. — Ces derniers auteurs concluent qu'il y a consommation progressive de cet hydrate de car-

bonne jusqu'à l'éclosion. Ce résultat est vérifié par Kotaka et Sera en 1908, dans leur étude sur « La transformation possible des graisses en glycogène dans les cocons de ver à soie pendant la métamorphose ».

Chez l'adulte. — La teneur des femelles est toujours plus élevée que celle des mâles. Voici les résultats de Vaney et Maignon, obtenus sur 10 individus moyens :

Femelle	722 mgrs
Mâle	84 mgrs

RECHERCHES PERSONNELLES

TECHNIQUE UTILISÉE

Nous avons repris cette étude en employant la méthode de Franckel-Garnier, qui donne de meilleurs résultats que la méthode de Brucke.

Les tissus frais sont broyés au mortier avec du sable et un volume déterminé d'acide trichloracétique à 400 : les albumines sont coagulées. On laisse digérer une demi-heure en présence de la solution acide puis on filtre à la trompe.

On lave le précipité avec la solution acide et on exprime tout le liquide à la presse. On recueille la totalité des solutions acides et on filtre.

Dans ce filtrat on précipite le glycogène par addition d'alcool. Il ne reste plus qu'à purifier le produit en le redissolvant dans l'eau distillée chaude et en le reprécipitant par l'alcool. On peut alors terminer le dosage de deux façons différentes :

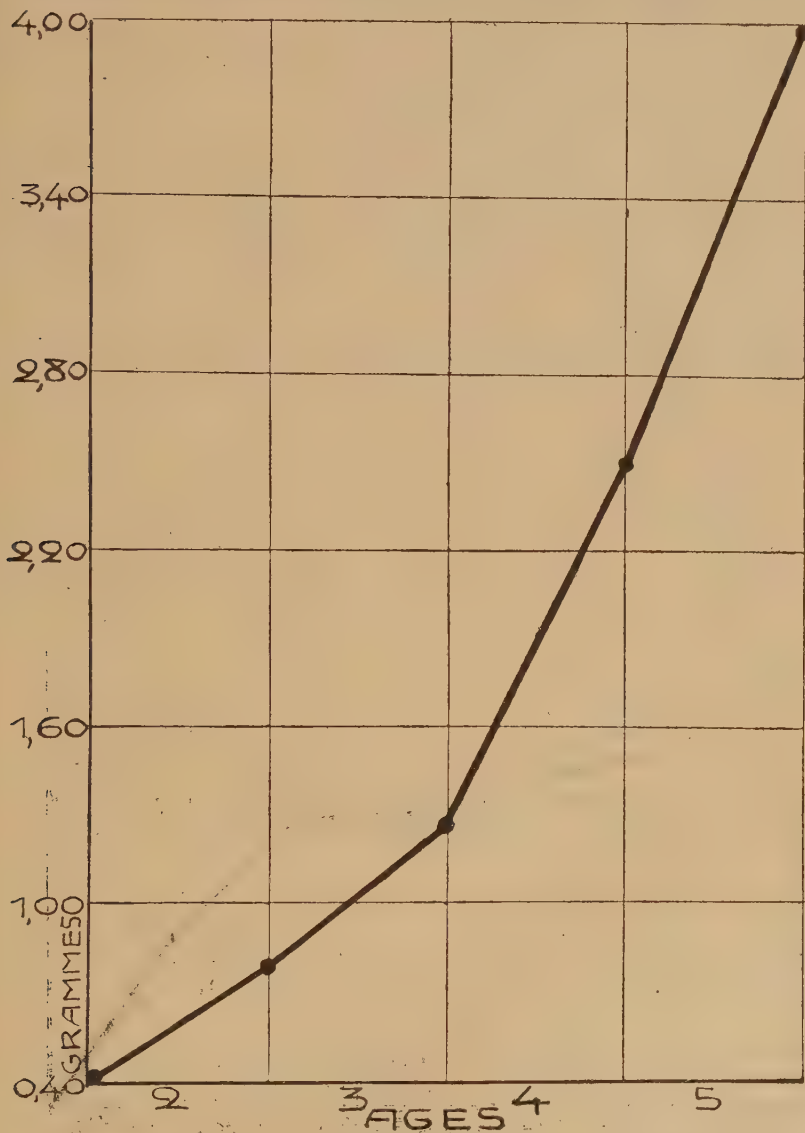
Soit recueillir le glycogène sur filtre taré et le peser :

Soit hydrolyser le produit ainsi obtenu et doser le glucose formé par l'un des nombreux procédés connus.

Glycogène chez la larve.

Chez les toutes jeunes larves, le glycogène n'existe qu'à l'état de traces intimes ; il faut broyer une grande quantité d'animaux pour obtenir un précipité appréciable.

Quand la larve atteint environ 2 centimètres de long, le glycogène commence à croître régulièrement avec une accélération considérable dans la période très courte qui pré-



Courbe n° 11. Teneurs en glycogène de la larve d'*Attaeus Pernyi* (exprimées en grammes pour 100 gr. de tissus frais).

cède le filage ; allant jusqu'à atteindre à la chrysalidation le taux de 4 0/0 chez *Attacus Pernyi*.

A ce moment, la chenille est vraiment le « sac à glycogène » décrit par Claude Bernard.

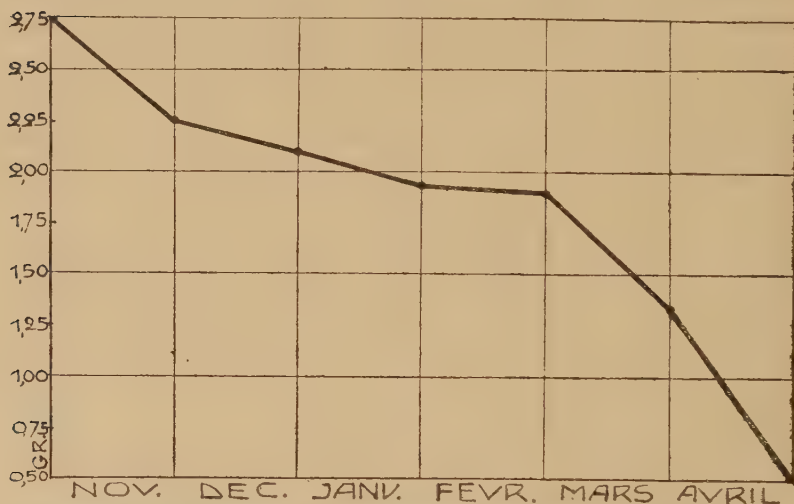
Voici l'ensemble de nos résultats répartis sur la période de croissance totale des chenilles :

Glycogène chez la nymphe

Le glycogène atteint son maximum dans les quelques jours qui suivent la chrysalidation. La suite du développement de l'insecte voit le glucide suivre une courbe descendante régulière allant même jusqu'à une chute brusque à la veille de l'éclosion.

Voici d'ailleurs ces teneurs exprimées en grammes pour 100 grammes de tissus frais et par mois de nymphose :

Mois	<i>Attacus</i> <i>Pernyi</i>	<i>Saturnia</i> <i>Pyri</i>	<i>Sphinx</i> <i>Ligustri</i>
Octobre	2,75	2,05	3,10
Novembre	2,25	1,75	2,80
Décembre	2,00	1,30	2,35
Janvier	1,95	1,25	1,95
Février	1,80	1,05	1,33
Mars	1,33	0,62	0,90
Avril	0,50	0,50	0,70



Courbe n° 12. — Teneur en glycogène des nymphes d'*Attacus Pernyi* (exprimées en grammes pour 100 grammes de tissus frais)

Glycogène chez l'adulte

Nous venons de voir le taux excessivement faible auquel se trouve le glycogène à la fin de la vie nymphale ; c'est dire que l'imago n'a, au moment de l'éclosion, que des quantités très réduites de ce glucide.

Les chiffres paraissent à première vue, plus élevés que les derniers notés chez la nymphe, mais ce n'est là qu'une apparence due à la différence de poids qui sépare la chrysalide de l'insecte parfait.

En suivant l'évolution du glycogène chez le papillon on s'aperçoit qu'il disparaît rapidement : quelques jours après l'éclosion on ne peut en déceler que des traces et à la mort il devient même impossible de le mettre en évidence.

Voici d'ailleurs nos chiffres établis sur l'imago d'*Attacus Pernyi* :

Mâle à l'éclosion : 0,90 0/0 ;

Femelle à l'éclosion avec œufs : 1,10 0/0 ;

Après quelques jours : traces ;

A la mort : traces indosables.

LE GLUCOSE

Historique

Le « sucre » est un des premiers éléments qu'on ait recherché et dosé chez les Insectes.

Dans les leçons sur les « Phénomènes communs aux animaux et aux végétaux », dès 1878-1879, Claude Bernard signale l'absence de cet élément dans les formes larvaires d'insectes, et constate sa présence dans les formes adultes.

Le sucre fait donc, d'après Claude Bernard, son apparition pendant le stade des chrysalides. En 1893, Bataillon fait la recherche du glucose à l'aide de la liqueur de Fehling et indique les difficultés que présente le dosage de cet élément, les procédés de défécation employés, étant insuffisants.

En 1902, cette étude est reprise par Bataillon et Couvreur, et en 1905, par Vaney et Maignon, puis Vaney et Conte en 1906. Cette fois les auteurs utilisent la technique suivante : ils portent au bain-marie à 100°, pendant une heure un poids déterminé de tissus ; le bouillon est déféqué par le réactif de Patein et Dufau, puis neutralisé et filtré. Le précipité lavé à l'eau distillée dans le liquide filtré, on élimine le mercure par la poudre de zinc. Les auteurs recherchent le glucose par la phénylhydrazine et emploient la liqueur de Fehling pour le dosage.

Voici les conclusions auxquelles sont arrivés ces auteurs :

Maignon 1902, dans ses recherches « sur la production du glucose sous l'influence de la vie asphyxique dans les tissus du Bombyx Mori », arrive aux conclusions suivantes :

Les tissus des vers à soie et des jeunes chrysalides ne renferment pas de glucose. Celui-ci fait son apparition à la fin du stade chrysalidaire. L'insecte parfait en contient toujours une certaine proportion comme l'a signalé Claude Bernard.

Enfin, Vaney et Maignon, en 1906, signalent que la date d'apparition est très variable et ses variations extrêmement irrégulières. En général, la quantité de glucose diminue depuis le moment de l'apparition jusqu'à l'éclosion.

RECHERCHES PERSONNELLES

Bien que les travaux de ces derniers auteurs aient donné un nombre assez étendu de résultats quantitatifs, nous avons repris l'étude du glucose avec une méthode précise, et sur les espèces de Lépidoptères que nous suivons depuis le début de notre travail.

Technique utilisée. — Méthode de Baudoin-Lewin

Cette micro-méthode qui a l'avantage de n'exiger qu'un centimètre cube de sang est basée sur le principe suivant :

Le sang étant débarrassé de ses matières protéiques par le nitrate de mercure, on utilise les propriétés réductrices du glucose qu'il renferme pour réduire une solution d'iodo-mercure de sodium avec comme terme ultime de réduction mise en liberté de mercure métallique. On dose ensuite ce mercure ainsi libéré au moyen de l'artifice suivant :

On ajoute un volume connu de solution d'iodate sulfurique qui réagissant sur l'iodo-mercure en excès libère une quantité déterminée d'iode. Cette iode oxyde le mercure qui se dissout et on titre l'halogène non combiné au moyen de l'hyposulfite centinormal. Un coefficient approprié donne les teneurs de glucose à doser.

En résumé :

Premier temps, réduction de l'iodomercure par le glucose et mise en liberté de mercure ;

Deuxième temps, oxydation de ce mercure par l'iode naissant produit de la réaction de l'iodomercure en excès sur la solution d'iodate sulfurique.

Troisième temps, dosage de l'iode non combiné par l'hyposulfite de soude.

Pour nos dosages dans le sang des chenilles, nous avons suivi rigoureusement la technique indiquée par Baudoin et

Lewin, telle qu'ils l'ont décrite au *Bulletin de la Soc. Chim. Biol.*, t. IX, mars 1927, n° 3, p. 280.

Nous employons de 3 à 4 cmc. de sang étant donné les faibles quantités de sucre que nous devons déceler, mais en restant toujours dans la même dilution totale pour la défécation, soit 30 cmc.

Teneur en sucre des larves

Nous avons pratiqué nos dosages au cours de la croissance de la larve afin de fixer la date d'apparition de ce glucide d'une façon précise. Notre méthode nous permettant d'opérer sur de petites quantités de sang et de tissus, il nous a été possible de le doser même dans la zone des teneurs très faibles.

Pour les trois espèces de larves, que nous avons étudiées, *Attacus Pernyi*, *Saturnia Pyri*, *Sphinx ligustri*, la date d'apparition du glucose s'est nettement localisée après la dernière mue c'est-à-dire à l'âge adulte larvaire.

Nous avons suivi alors la montée du sucre qui croît presque chaque jour pour atteindre la teneur de 0 gr. 700 à 0 gr. 750 par litre de sang au moment du filage. C'est la teneur maxima que nous avons observé dans le milieu intérieur. Parallèlement à ces dosages, nous faisons la même recherche sur les tissus débarrassés du contenu digestif ; nous n'avons jamais pu mettre le glucose en évidence jusqu'à la chrysalidation.

Le tableau ci-dessous résume nos résultats exprimés en grammes pour 1.000 cmc. d'hémolymphe.

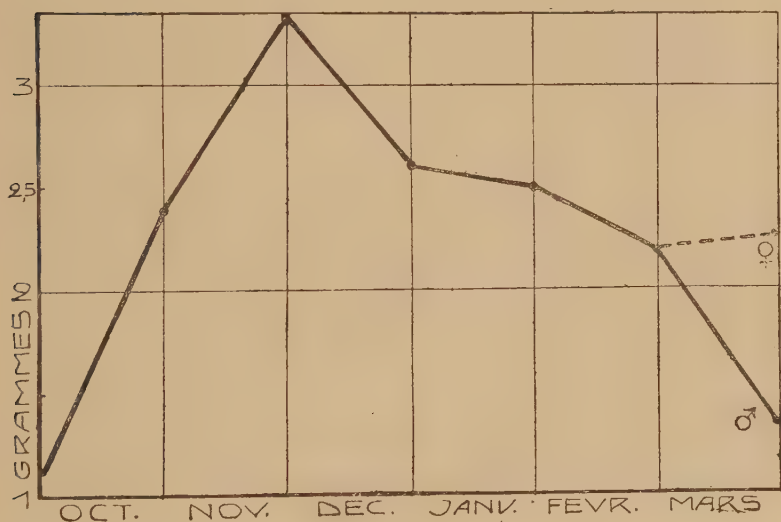
	<i>Attacus</i> <i>Pernyi</i>	<i>Sphinx</i> <i>Ligustri</i>	<i>Saturnia</i> <i>Pyri</i>
	—	—	—
<i>Larve adulte</i>	0.198	0.221	0.200
3 jours après	0.225	0.235	0.210
6 jours après	0.475	0.390	0.387
Début du filage	0.583	0.625	0.515
Larve dans son cocon ..	0.725	0.775	0.700

Glucose chez les nymphes

Le taux du sucre, après la chrysalidation, continue à croître. Mais à partir d'octobre, l'hémolymph se sépare difficilement des tissus en histolyse.

Nous avons alors pratiqué un broyat sur une bête entière et souvent prélevé une portion aliquote de la liqueur homogène afin de rester dans la zone des concentrations où la méthode est encore précise. Nous avons suivi trois espèces de nymphes, d'octobre à mai, et nos résultats sont exprimés en grammes pour 1.000 grammes de tissus frais.

Mois	Attacus Pernyi	Saturnia Pyri	Sphinx Ligustri
Octobre	1.07	1.55	2.90
Novembre	2.40	1.64	3.45
Décembre	3.36	1.93	3.05
Janvier	2.61	1.90	3.40
Février	2.50	1.25	3.26
Mars	2.20	1.10	2.90



Courbe n° 13. — Teneur en sucre de la nymphe d'Attacus Pernyi (exprimées en grammes pour 100 grammes de tissus frais)

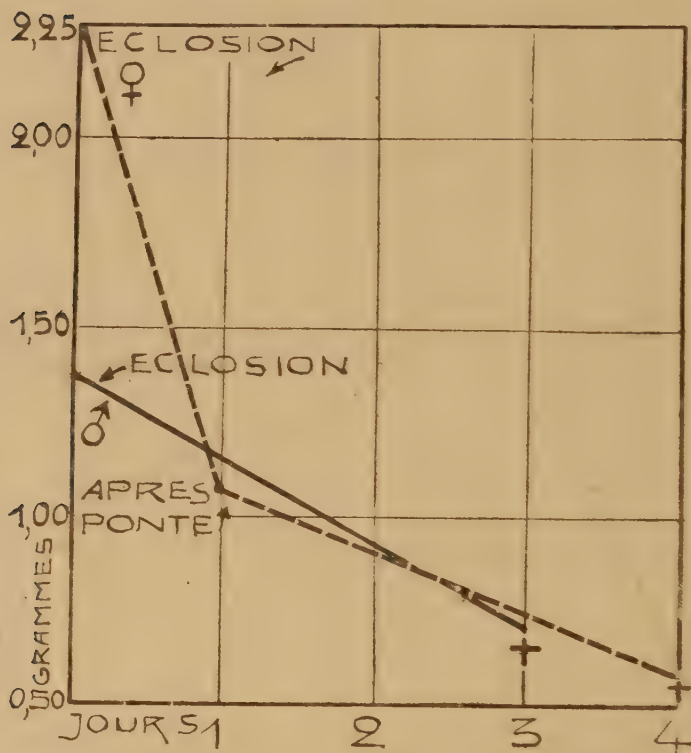
Glucose chez l'adulte

Chez l'adulte la teneur en glucose est essentiellement fonction de l'âge de l'animal mais elle va régulièrement diminuant du jour de l'éclosion à celui de la mort.

Voici d'ailleurs ce que l'analyse nous apprend :

Teneur en glucose chez l'imago d'*Attacus Pernyi*

1° Mâle à l'éclosion	1,33	%
2° Mâle après fécondation et trois jours de vie	0,70	%
3° Femelle à l'éclosion	2,25	%
4° Femelle après la ponte	1,10	%
5° Femelle à la fin de sa vie (5 jours après l'éclosion)	0,582	%
6° Œufs	Pas de glucose	



Courbe n° 14. — Variation de la teneur en sucre (exprimée en grammes pour 100 gr. de tissus frais), chez *Attacus Pernyi* adulte: 1° mâle ———; 2° femelle - - - - -

Si nous rapprochons ce tableau des deux précédents, nous sommes frappés par la régularité de la courbe que forment ces points de repère joints par un trait continu.

On y voit une progression régulière et même rapide depuis l'instant de la naissance de la jeune larve jusqu'à, environ, la « mi-nymphose ». Puis, ce sommet atteint sensiblement à la fin du mois de décembre une diminution constante allant jusqu'à la disparition complète de l'hydrate de carbone lui-même.

Ces deux phases, si nettement différenciées, coïncident avec deux étapes importantes de la vie de l'animal.

La première, fort simple, se manifeste par l'accumulation pure et simple d'abord, ensuite l'élaboration du glucose au sein des divers tissus de l'insecte.

La deuxième est une consommation de cette réserve pour la chrysalide d'abord, consommation énergétique destinée à fournir concurremment à celle des lipides les calories nécessaires à la reconstitution des tissus de l'insecte parfait ; et ensuite, une utilisation directe, faite par l'imago, de l'hydrate de carbone entreposé dans ses tissus.

Nous avons vu, en effet, dans le chapitre précédent, que le papillon naît avec des traces infimes de lipides et pas du tout de substances insaponifiables ; il a bien à sa disposition quelques acides aminés mais il ne semble pas que son organisme les utilise du point de vue énergétique.

Or, dans sa vie extrêmement brève, cet animal fait une dépense d'énergie considérable dont les phénomènes respiratoires sont un témoin indiscutable et pour assurer au moins deux des plus importants travaux qui lui sont dévolus, à savoir : la fécondation et le vol, nous le trouvons dépourvu de ces précieuses substances dynamogénétiques qui font la force de la nymphe : les lipides et l'insaponifiable. C'est donc du côté des glucides interposés qu'il faut se tourner et l'on doit voir dans le plus simple des hydrates de carbone la base même de la « dynamogenèse » qui préside à la conservation de l'espèce.

BIBLIOGRAPHIE

(*Glycogène et sucre*)

- BERNARD (Cl.). — Leçons sur les phénomènes de la vie en commun aux végétaux et aux animaux (1878-1879).
- BATAILLON et COUVREUR. — Fonction glycogénique chez le ver à soie pendant la métamorphose. *C. R. Soc. Biol.*, 1892, p. 669.
- BIERRY (H.). — Le sucre protéidique. *C. R. Ac. des Sc.*, 1919, t. CLXVIII, p. 1225.
- BIERRY et GRUZEWSKA. — Nouvelle méthode de dosage du glycogène. *C. R. Ac. des Sc.*, CLV, p. 1559, 1912.
- BLUMENTHAL. — Sur une microméthode relative au dosage du sucre dans le sang des insectes. *Sciences*, 617, juin 1927.
- COUVREUR (E.). — Sur la transformation de la graisse en glycogène chez le ver à soie pendant la métamorphose. *C. R. Soc. Biol.* 1895.
- MAIGNON. — Recherches sur la production du sucre par les vers à soie. *Lab. d'études de la soie*, 1902.
- KOLAKA et SERA. — Findet die Umwandlung von Fett in Glycogen bei der Seidenraupe während der Metamorphose statt? *Chemische Zentralblatt*, p. 1679, 1908.
- VANEY et MAIGNON. — Contribution à l'étude physiologique des métamorphoses du ver à soie. *Rapport des Laboratoires d'Etudes de la soie*, t. XII, 1906.
- Variations subies par le glucose et glycogène. Les albumines solubles au cours des métamorphoses du ver à soie. *C. R. Ac. des Sc.*, 1905, mai.
-

CHAPITRE QUATRIÈME

LES FERMENTS

INTRODUCTION

Nous n'avons pas ici l'intention de donner un aperçu de l'histoire, ni même de l'importance de l'action des ferments dans les phénomènes biologiques. L'étendue que nous voulons donner à ces pages, n'y suffirait pas et nous n'avons pu dans ce travail qu'ébaucher en vue de recherches ultérieures, quelques directives sur les actions fermentatives pendant la nymphose des lépidoptères.

Rappelons brièvement que le mot « ferment », qui suggère des idées nouvelles et encore mal connues sur l'activité cellulaire, est cependant un terme utilisé depuis longtemps. Mais, restée vague pendant de nombreux siècles, la notion de diastase ne s'est précisée qu'avec Stahl, puis Berzélius, qui ont ramené l'action fermentative à une action de catalyse, et défini les ferments par cette expression : « Ils agissent comme des corps, qui, par leur simple présence, sont capables d'éveiller, en quelque sorte, des énergies assoupies. »

Le début du siècle dernier a vu naître un grand nombre de travaux et d'idées nouvelles sur les ferments : théorie de Von Lubecq, et surtout de Pasteur et son école. Oswald définit l'action catalytique de la façon suivante : « Phénomène par lequel la vitesse d'une réaction et la vitesse seule est modifiée sans que le corps lui-même subisse des modifications. »

Bredig, lui, définit un double mode d'action des enzymes :

1° Par leur composition chimique car ils contiennent un métal ;

2° Par leur état physique, car ils sont des colloïdes.

Pour Bertrand, ce sont des matières albuminoïdes qui servent de support à un métal,

Doué de telles propriétés le ferment devient dans la vie de la cellule un facteur essentiel. C'est grâce à lui que la cellule se nourrit, se modifie, se défend. On imagine difficilement un travail aussi important que celui de la métamorphose sans l'intervention d'actions diastases.

Mais la difficulté de l'expérimentation du sujet que nous abordons et le temps limité nous a empêché d'envisager (du moins dans ce mémoire), toute l'importance des actions enzymatiques au cours de la métamorphose. Nous n'effleurons donc que le problème et surtout du point de vue de la dégradation des matières protéiques.

Historique

Il n'a pas été fait jusqu'à présent de travail d'ensemble sur les ferments des insectes métaboles et surtout sur le rôle qu'ils peuvent jouer dans le remaniement nymphal.

Certes beaucoup d'enzymes ont été mis en évidence par les auteurs s'occupant d'une diastase déterminée qu'ils recherchaient dans la série animale. C'est ainsi que les auteurs allemands ont étudié la dissociation du saccharose par le suc intestinal de lépidoptères. La *maltase* est connue chez presque toutes les chenilles.

Strauss a décelé la *lactase* chez *Bombyx Mori* et *Tenebrio Molitor*.

Si l'on ne découvre de véritable *tryptase* on trouve cependant chez les insectes des ferments protéolytiques de l'ordre des *peptidases* agissant en zone alcaline.

Les *oxydases* ont été étudiées par Dewitz en 1902, qui a voulu voir dans leur présence la raison même des métamorphoses. Nous rappellerons brièvement la suite de ses expériences :

L'auteur a constaté qu'un broyat de larves de mouches brunissait rapidement au contact de l'air ; cette observation était d'ailleurs connue bien antérieurement. L'auteur con-

cluait que les oxydases jouant un rôle important dans le brunissement des téguments au moment de la métamorphose, chercha à voir comment la suppression des oxydations réagirait sur la nymphose. D'abord, il faisait subir à des larves de mouches deux à trois bains d'huile par jour, ce traitement suffisait à retarder la nymphose de plusieurs mois. Ensuite il injectait à des larves de *Pieris brassicae* une forte goutte d'acide acétique à l'aide d'une pointe de verre capillaire. La blessure provoquée par l'injection était faite à des bêtes-témoins. Voici les résultats obtenus pour les concentrations suivantes :

De 0,25 0/0 à 1 0/0, l'acide acétique donne 13 0/0 de chrysalides ;

A 1,60 0/0 l'acide acétique donne 2 0/0 de chrysalides ;

A 3 0/0, l'acide acétique ne donne pas de nymphe et mort des larves injectées.

Après des expériences aussi peu précises l'auteur conclut que la métamorphose s'accomplit sous l'influence d'un enzyme (oxydase).

Les travaux récents sont ceux de Philipps et Berthoff (1927), qui ont trait aux ferments du tube digestif ; ils enlevaient le contenu digestif de larves qu'ils plaçaient sur des substrats variés. La production des diastases est impliqué entièrement par ces auteurs aux micro-organismes vivant en symbiose dans le tube digestif de l'animal.

ETUDE DE QUELQUES FERMENTS

La première partie de ce travail nous ayant permis d'éclaircir un peu les grands traits de l'histolyse chimique qui accompagnent les phénomènes de la métamorphose, il nous a paru intéressant d'essayer de mettre en évidence les ferments protéolytiques qui paraissent agir dès le début de la dégradation des tissus.

L'individualité d'un organisme se trouve profondément altéré si des cellules étrangères viennent à se développer en un point quelconque de cet état cellulaire homogène. Dès lors se trouveront intercalées au milieu des cellules dont la fonction est homogène de nouvelles espèces cellulaires pos-

sédant une organisation complètement hétérogène. Ces cellules étrangères ont un métabolisme qui leur est propre et tout l'ordre qui réglait les échanges nutritifs intercellulaires se trouve alors troublé. Les cellules anarchiques acquièrent une indépendance en donnant naissance à des produits de sécrétion qui se comportent vis-à-vis des tissus environnants comme des éléments étrangers. L'organisme atteint dans son intégrité réagit, et réagit vraisemblablement par la production de ferments endocellulaires et leucocytaires.

Or, rappelons l'état de la larve au moment de la crise de la métamorphose : sa croissance est achevée, mais au sein des tissus larvaires organisés existent des ébauches cellulaires informes dont le développement et la différenciation donneront les organes spécialisés de l'imago. En effet, les disques imaginaires préexistent à la métamorphose : ils annoncent le papillon dès l'éclosion de la chenille et c'est précisément au moment où ces ébauches entrent en prolifération active que la larve subit la véritable maladie qu'est la crise de métamorphose.

Nous avons suivi dans la première partie de notre travail les variations des matières protéiques du milieu intérieur des larves : c'est ainsi que nous avons mis en évidence dans le sang des chenilles, une augmentation sensible du taux des acides aminés et une quantité notable de peptones dans les jours qui précèdent le filage du cocon.

Ces produits de désintégration des protides nous ont conduit à penser qu'une protéase, vraisemblablement d'origine leucocytaire, attaquait des albumines spécifiques, attaque qui s'étendait bientôt au niveau des muscles pour ne plus donner à l'ouverture d'une nymphe d'insecte métabole qu'une bouillie fluide que les auteurs ont souvent comparé au vitellus de l'œuf.

Parallèlement à ces phénomènes de début d'histolyse, les éléments figurés du milieu intérieur des chenilles subissent quelques changements. Leur nombre s'accroît considérablement, certaines cellules grossissent jusqu'à devenir de véri-

tables phagocytes qui se chargent des débris de la destruction pour se transformer en « Kornchenkugeln » que Perez traduit par le mot « Sphères de granules ».

Nous avons suivi les modifications morphologiques des éléments sanguins de la chenille de *Sphinx ligustri*, *Saturnia Pavonia*, et *Bombyx Mori* : nous avons trouvé les mêmes éléments que ceux décrits par les travaux des histologistes et nous empruntons leur terminologie pour notre description, à savoir, dans l'ordre de leur apparition :

1° *Proleucytes de Hollande*. — Ce sont des cellules plus ou moins arrondies de 5 à 9 microns, et dont le noyau occupe presque tout l'espace cellulaire ; ces éléments se multiplient par cariokynèse : leur nombre augmente en grande quantité au dernier âge de la larve.

2° *Leucocytes jeunes*. — Ce sont des cellules mesurant de 8 à 14 microns et présentant des formes diverses ; elles sont allongées, triangulaires, ou fusiformes : on les trouve chez la larve et même chez la nymphe.

3° *Leucocytes âgés ou Phagocytes*. — Nous avons trouvé ces formes d'éléments quelques jours après le filage du cocon ; la position du noyau n'est pas constante ; le protoplasme est vacuolaire et quelquefois chargé d'inclusions albuminoïdes ; ils peuvent augmenter beaucoup de taille.

Le résultat de ces observations, d'une part, la présence dans le milieu intérieur de substances résultant d'une protéolyse, d'autre part accumulation des éléments leucocytaires, nous a amené à mettre en évidence l'existence de ferments protéolytiques émis par ces éléments.

Il n'a pas encore été fait chez les Invertébrés, à notre connaissance, aucun travail sur ce sujet.

Par contre de nombreux auteurs ont étudié les ferments leucocytaires chez l'homme et particulièrement dans les cas pathologiques.

Nous ne ferons pas ici une mise au point complète de ces travaux, ceci sortirait du cadre de notre sujet ; nous rappellerons succinctement les grandes lignes de ces recherches et

d'abord le travail magistral d'Abderhalden sur « les ferments de défense de l'organisme animal », dont Ecalte nous a donné une excellente traduction.

Puis, ceux de Liber, 1895, qui remarque la digestion de la fibrine et la liquéfaction de la gélatine par le pus aseptique d'un hypopion.

Achalme 1899 signale ces mêmes ferments dans les leucocytes des épanchements suppurés. Ce n'est que plus tard qu'apparaissent les travaux de l'Ecole Américaine et Allemande.

Opie 1905, Muller et Jochmann 1906, montrent que le pouvoir protéolytique était le propre des polynucléaires de l'homme.

Noël Fiessenger et Pierre-Louis Marie, en France, ont repris ces études et fixé leur rôle dans la pathologie et la physiologie générale.

Nous aidant des observations et des techniques mises au point par ces auteurs, nous avons essayé d'étendre ces données au cas particulier de la métamorphose.

RECHERCHES PERSONNELLES

Nous avons recherché les ferments leucocytaires dans le sang des chenilles des grands Lépidoptères que nous avons suivis : *Saturnia pyri*, *Sphinx ligustri* et *Bombyx mori*.

Nous avons fait, autant que possible, coïncider nos essais de mise en évidence des ferments avec les jours où les dosages chimiques nous signalaient une forte proportion de peptones et une élévation du taux des acides aminés.

Nos résultats ont surtout été satisfaisants, dans les jours qui suivent le filage du cocon ; le *Bombyx mori* se prête particulièrement à ces essais ; en effet, sa nymphose ne dure que de 18 à 21 jours, les phénomènes chimiques d'histolyse et d'histogénèse prennent chez lui une intensité toute particulière.

Préparation des milieux

Nous nous sommes servis d'ovalbumine fraîche coagulée préparée par nous en boîte de Pétri et en tube incliné.

De sérum coagulé en tube incliné ;

De caséine à 1.0/0 dans des solutions de soude et une trace de thymol comme antimicrobien ;

D'œufs cuits durs. Pour ce dernier nous avons utilisé la technique de Fiessenger et P.-L. Marie, c'est-à-dire qu'après avoir découpé la calotte supérieure de l'œuf etensemencé la section nous avons reconstitué l'œuf dans son intégralité en resoudant les deux parties.

Pour ce qui concerne les ferments du sang des chenilles et du milieu intérieur des chrysalides, nous avons éliminé de bonne heure, les milieux liquides.

TECHNIQUE

On prélève le sang d'insecte aussi proprement que possible, par incision d'une fausse patte membraneuse abdominale chez la larve et section de l'extrémité postérieure chez la nymphe ; par une faible pression sur les parois il sort un liquide clair d'une belle teinte verte, qui tombe directement sur les milieux soigneusement stérilisés auparavant. La verrerie et les instruments avaient été préalablement passés au four Pasteur. Quand le nombre des chenilles nous l'a permis nous avons recueilli la plus grande quantité de sang possible (3 à 5 cmc.), auxquels nous ajoutons 1 ou 2 cmc. d'eau alcoolisée au tiers. Après centrifugation on prélève le culot, augmentant ainsi le nombre des éléments figurés à déposer sur les milieux. On peut aussi chauffer le culot de centrifugation à 50° : les leucocytes sont tués et la diastase est mise en liberté. Après avoir réparti cet extrait sur les milieux solides, le tout est porté au thermostat à 38°, de 48 heures à 72 heures.

Nous avons obtenu des digestions nettes, d'ovalbumine et de sérum coagulé par les leucocytes du sang de chenille de *Bombyx mori*, depuis le début du filage jusqu'au sixième jour de nymphose ; nous avons constaté des cupules assez

larges de digestion et nous nous sommes assurés chaque fois qu'il n'était survenu aucune contamination microbienne par un prélèvement à l'aide de platine et un examen microscopique avec coloration appropriée.

CONCLUSIONS

Résumant dans le moins de mots possibles le résultat de notre travail, nous pensons donc que le sang des larves d'insectes en métamorphose contient un ferment capable de digérer les matières protéiques (ovalbumine coagulée, sérum coagulé) dans la zone alcaline de 7, 8 à 8,2 et à la température de 38°. Cette action protéolytique leucocytaire commence au début du filage du cocon et devient intense les premiers jours de la métamorphose.

LES FERMENTS PROTÉOLYTIQUES PENDANT LA NYMPHOSE

Après avoir étudié la production de ferments protéolytiques par les leucocytes, nous voulions étendre nos recherches à l'étude de la démolition de la molécule protéique pendant toute la période d'histolyse. Mais nous avons éprouvé dans ce domaine les plus grandes difficultés. En effet, comme il est bien connu, les nymphes des lépidoptères sont toujours atteintes par des bactéries et des champignons. Il est difficile, même en prenant les plus grandes précautions d'asepsie, d'obtenir des digestions sans que les milieux ne soient envahis par ces éléments. D'ailleurs, les actions protéolytiques sont beaucoup plus rapides quand on laisse agir les bactéries symbiotes et nous ne doutons point qu'elles ne jouent un grand rôle dans les phénomènes histolytiques de la métamorphose.

Toutefois, en opérant sur un grand nombre d'animaux nous sommes parvenus à avoir quelques actions fermentatives sur sérum coagulé et sur gélatine sans contamination.

Préparation des milieux. — Nous avons essayé l'action des ferments sur des substrats variés :

1° *Substrats solides.* — A) Ovalbumine coagulée en boîte de Pétri ;

B) Sérum coagulé en tube.

2° *Substrats liquides.* — A) Gélatine préparée suivant la méthode de Fermi : le mélange est stérilisé pendant une heure à 110° et filtré sur Chardin ;

B) Caséine en solution à 1 0/0 dans l'eau distillée bouillie. (Il faut ajouter une certaine quantité de soude pour obtenir la solution.) ;

C) Solution de fibrine fraîche. Nous avons dû supprimer le NaF qui inhibe l'action des ferments.

Ajustement au pH. — Après quelques essais, nous permettant de trouver la zone de pH optimum nous nous sommes limités aux chiffres suivants :

Pour la gélatine : 7,9 à 8 ;

Pour la caséine : 8,2 à 8,4 ;

Pour la fibrine : aux environs de 7,6.

Pour pratiquer cet ajustement, on ajoute à une portion aliquote du milieu une certaine quantité de soude N/20 en présence d'un indicateur coloré en s'aidant du comparateur de Clarke.

Extraction du ferment. — L'extraction des ferments se faisait par un broyage minutieux dans l'eau distillée stérilisée en présence de quartz en poudre stérilisé et de glycérine : le tout est extrait à la trompe et le liquide clair filtré.

On répartit une portion de cette extraction variant de 2 à 5 cmc. sur les substrats préparés précédemment. Nous employons comme activants de nos préparations 1 cmc. d'une solution à 10 0/0 de chlorure de calcium, dont l'action renforçait celle de la glycérine.

Méthodes permettant de suivre la marche de l'hydrolyse fermentative. — Il y a deux méthodes qui peuvent être suivies dans l'étude de l'action protéolytique :

1° La détermination de la nature chimique des produits formés au cours de la protéolyse ;

2° L'étude de la vitesse du processus et des influences qui peuvent la modifier.

Nous avons surtout utilisé la première.

Nous dosions la quantité des acides aminés formés dans un temps donné par la technique Sorensen.

Mais cette méthode ne peut avoir quelque valeur que si les produits du début de la réaction (substrats et extraits d'insecte) ne contiennent pas déjà des acides aminés. Or, il est très difficile d'obtenir des milieux purs, surtout en ce qui concerne la solution de fibrine. Nous avons essayé d'éliminer ces acides aminés en faisant dialyser la solution au préalable dans les dialyseurs de Scheil et Schünn indiqués par Abderhalden. Cette méthode très longue nous a donné de très mauvais résultats : nous avons donc dû éliminer ces substances impures.

D'autre part, l'extrait diastasique de l'insecte contenait déjà une certaine proportion d'acides aminés puisque l'histolyse était en pleine évolution. Nous prélevions donc une portion aliquote de cet extrait sur lequel nous opérions un premier dosage d'acides aminés : cette teneur était pratiquement négligeable par rapport aux quantités mises en liberté à la fin de l'hydrolyse.

Résultats des actions protéolytiques. — 1° Sur les milieux solides, nous avons obtenu de larges cupules de digestions.

2° Sur les milieux liquides, nous dosions les acides aminés formés. Nous n'avons jamais obtenu de réactions rapides, c'est-à-dire terminées en quelques heures : le produit extrait des insectes n'était pas pur et c'est vraisemblablement la raison de notre insuccès.

Le pH varie dans les deux jours du début de l'expérience, ensuite il ne varie plus. Nous résumons dans le tableau ci-dessous quelques-uns des résultats obtenus :

Substrats utilisés	Extraits d'insectes obtenus dans les mêmes conditions	pH		Acides aminés (en mmgr. d'N) formés	
		au début	à la fin	en 48 h.	en 72 h.
Gélatine 50 cmc. à 5 %	3 cmc.	8	6,5	44	60
Caséine 50 cmc. à 1 %	3 cmc.	8,4	7,2	21	63,5
Fibrine 30 cmc.	5 cmc.	7,6	6,4	14	35

Il résulte de ces quelques chiffres que la caséine paraît constituer un milieu facilement attaqué par la protéolyse : ceci serait en accord avec un fait connu ; en effet la solution alcaline de ce corps modifie son état physico-chimique et d'après Michaelis facilite la dissociation protéolytique.

De l'ensemble de nos observations il résulte qu'il est impossible d'obtenir aucun produit d'hydrolyse après la minymphose, c'est-à-dire entre décembre et janvier ; il est vraisemblable que l'action diastasique est réversible et qu'à une époque bien déterminée le ferment hydrolisant devient « synthétisant ».

Dans cette seconde phase nous aurions voulu étudier la reconstitution de la molécule protéique à l'aide des enzymes de lépidoptères. Il n'est pas impossible, *a priori*, de réaliser cette expérience, qui n'est en somme que la réédition de celle de Maillard, à savoir : condenser entre eux des acides aminés en présence de glycérine et d'eau ; la seule difficulté consistait à remplacer la température de 170° exigée par cet auteur par celle d'un thermostat à 38°, en catalysant la réaction par un ferment approprié.

Il était particulièrement difficile de trouver comme substance de base dans ce travail des produits de désagrégation de la molécule protéique susceptibles de se souder en un complexe supérieur. Nous avons fait quelques essais sur un mélange aussi complet que possible d'acides aminés, constituant une farine jaunâtre résultat d'une hydrolyse habilement menée de chair de poisson. (Ce précieux matériel nous a été gracieusement fourni par M. Fabre-Domergue).

Cette solution contenait une forte proportion d'un mélange d'amino-acides, mais elle n'était pas cependant parfaitement pure et si elle semblait dépourvue de matières protéiques (l'acide trichloracétique ne donnant aucun précipité), les peptones s'y montraient encore en quantité notable.

Nous procédions de la façon suivante :

Dans une série de trois récipients stérilisés nous introduisons un égal volume de notre solution d'acides aminés ;

Le premier servait de solution-témoin ;

Le second recevait une quantité connue mais variable suivant les cas, d'extrait diastasique d'insecte en crise histogénétique ;

Enfin, dans le troisième on dosait les acides aminés par la méthode habituelle.

Les deux premiers vases, soigneusement bouchés, étaient placés au thermostat à 38°, pendant un temps variant de 4 à 12 jours.

Au bout de ce laps de temps on retirait les flacons et l'on dosait dans chacun d'eux la quantité d'acide aminé restant : le témoin demeurait constant, mais dans le milieu en expé-

rience on arrivait parfois à ne retrouver aucune trace des amino-acides initialement placés.

Aucune déperdition d'azote sous forme d'ammoniaque ne paraissait se produire puisque nous n'avons pu mettre en évidence ce produit par le réactif de Nessler.

Il aurait été bon de faire dans cette solution, dépourvue de ses éléments initiaux, un titrage des peptones libérées ou des polypeptides qui pouvaient s'y trouver, mais il aurait fallu pour cette étude utiliser la longue et compliquée méthode de Martens inutilisable dans un cas semblable.

Nous pouvons donc conclure de ces expériences que l'insecte en histogénèse possède des diastases qui sont capables de former à partir d'acides aminés élémentaires des composés plus élevés dans la série protidique, mais que les méthodes jusqu'ici utilisées pour le dosage de ces produits restent inapplicables dans le cas qui nous occupe.

LES PHOSPHATASES

Les dosages chimiques nous ayant conduit aux résultats suivants, à savoir :

1° Que le taux du phosphore total était constant pendant la nymphose ;

2° Que le taux du phosphore minéral croissait pendant les processus d'histolyse pour disparaître pendant l'histogénèse, nous avons pensé qu'il y avait là vraisemblablement l'action d'une phosphatase agissant sur les composés organiques phosphorés pour mettre en liberté des phosphates et le radical organique lui-même.

Pour mettre en évidence la présence des phosphatases on opère de la façon suivante :

On prend comme substrat une solution à 1 0/0 de glycérophosphate de soude, on prélève de 30 à 50 cmc. de cette solution, à laquelle on ajoute un peu de toluol comme antiseptique. Après y avoir ajouté une certaine quantité d'extrait glycériné aseptique d'insecte on laisse au thermostat à 38° pendant 24 heures.

A la fin de la période d'action, la solution est déféquée pour en précipiter les protides et l'on dose dans le filtrat les phosphates, soit en les précipitant par la mixture magnésienne, soit par une méthode colorimétrique, comme celle de Briggs.

La solution de glycérophosphate de soude à 1 0/0 est telle que 1 cmc. correspond à 1 milligramme de phosphore minéral.

Pendant les mois d'octobre à janvier, nous avons obtenu sur 100 cmc. de cette solution, une mise en liberté de 25 à 40 milligrammes de phosphore minéral résultant de l'action de 2 cmc. d'extrait d'insecte pendant 48 heures.

BIBLIOGRAPHIE

- ACHALME. — Recherches sur la présence de ferments solubles dans le pus. *C. R. Soc. Biol.*, 1899, 568-570.
- ABDERHALDEN. — Les ferments de défense de l'organisme animal. *Edition française traduite sur la 3^e édition allemande, par Ecable* (O. Doïn, éd., 1914).

- ANGLAS. — Quelques caractères essentiels de l'histolyse pendant la métamorphose. *Bull. Soc. Ent. de France*, 1901, p. 17.
- BAYLISS and STARLING. — The proteolytic activities of the activities of the pancreatic juices. *J. Physiol.*, 1904, XXX, 61-83; *Ibid.*, 1905, XXXII, 136.
- The synthetic action of enzymes. *J. Physiol.*, 1913, XLVI, 236-266.
- COMSTOCK and NEEDHAM. — The wings of insects. *American Nat.*, XXXII et XXXIII, 1898-1899.
- DEJUST-DEFIOL. — Contribution à l'étude de la réaction d'Abderhalden. *Thèse médecine, Paris*, 1914.
- DEWITZ. — Recherches expérimentales sur la métamorphose des insectes. Action des enzymes (oxydases) dans la métamorphose des insectes. *C. R. Soc. Biol.*, 1902.
- ECALLE. — Les ferments de défense dans l'organisme animal. *Traduction de la 3^e édition allemande des travaux d'Abderhalden* (Doin, édit., 1913-1914).
- FIESSENGER et MARIE (P.-L.). — Les ferments digestifs des leucocytes. Le zymo-diagnostic (Paris, 1910, Maloiné).
- HARLEY. — Caractères différentiels des produits de la digestion pepsique et trypsique en présence de fibrine. *C. R. Soc. Biol.*, 1899, 51-70.
- HENRI. — Ferments digestifs chez quelques invertébrés. *C. R. Soc. Biol.*, 1903, LV, 1316.
- HUGOUNENCO. — Précis de chimie physiologique et pathologique, p. 96.
- HUGOUNENCO et LOISELEUR. — Sur la constitution des diastases protéolytiques et le mécanisme de leur action. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. VII, n° 8, 1925.
- IMMS. — Textbook of Entomology (disques imaginaires).
- JAVILLIER. — Les ferments protéolytiques (Paris, 1909).
- LAMBLING. — Précis de biochimie (Masson, édit., Paris, 1919).
- MERCER. — The development of the wings in the lepidoptera. *Journ. New-York Entom. Soc.*, t. VIII.
- NEEDHAM. — Les protéases de la muqueuse stomacale. *Cambridge Ztschr. f. Physiol. Chemist.*, 1929, 180-127-143.
- OPIE. — Intracellular digestion. The enzymes and anti-enzymes. *Physiol. Rev.*, II, 1922, 552-585.
- YOUNG (C.-M.). — The digestion of cellulose by invertebrates. *Scienc. Progr.*, 1925, n° 78, 242-248.
- ZIEGLER und JOCHMANN. — Zur Kenntniss der akuten myeloiden Leukämie. *Deutsch. Med. Wchnschr.*, 1907, 33, 649-753.
- VERNON. — The conditions of action of trypsin on fibrin. *Journ. Physiol.*, 28, 275, 1900.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Il n'est point dans nos intentions de reprendre ici les conclusions déjà exposées à la fin de chacun des chapitres où elles ont la place qui leur échoit.

Mais nous pensons qu'il est bon de présenter sous une forme concise ce que l'expérimentation nous a permis de conclure de nos recherches.

En suivant dans la série de leur évolution les lépidoptères de notre travail depuis l'œuf de la chenille jusqu'à la mort du papillon, un examen de ce que l'on pourrait appeler les constantes physiques ou biophysiques de l'animal (poids, humidité, coefficient respiratoire, etc...) nous a montré que, pendant les « longues heures de mystère » où l'insecte s'enclôt dans sa gaine chitineuse, il « vit » et que sa renaissance ailée n'est point une simple revivance après un repos léthargique analogue à une hibernation d'animaux supérieurs.

Sous cette mystérieuse enveloppe, nous avons mis à jour la suite des bouleversements organiques et biochimiques dont l'histologie nous avait déjà révélé et signalé l'importance. Et nous avons pu saisir, aux divers accidents de terrain qui en jalonnent la route, l'allure générale des perturbations de la matière vivante au cours de la vie nymphale.

Peptones, acides aminés, acide urique, tels sont les groupements chimiques qui marquent dans notre travail les étapes successives par lesquelles s'effectuent destruction et reconstitution des tissus, histolyse et histogenèse entrevues sous leurs aspects physiochimiques. De la molécule complexe des albumines protoplasmiques à l'acide aminé le plus simple, nous avons mis en lumière cet « écartèlement », cette lente dissociation des protides larvaires ; puis, sur le chemin inverse de la reconstitution imaginaire, à partir de ces mêmes amino-acides histolytiques, nous avons gravi les échelons de la rapide et stupéfiante synthèse protéidique.

Et ce travail de chaque instant, dans l'un quelconque des sens où l'activité cellulaire s'emploie à le diriger, il nous fallait en trouver l'origine, la force vive, l'énergie qui l'alimente et en conditionne constamment l'existence.

Enfouis au sein même des tissus, les réserves que la larve accumule, lipides et glucides de toute nature, remplissent ce rôle énergétique dont l'importance est primordiale. La forte proportion de carbone qu'ils renferment en fait des substances dont l'oxydation intracellulaire, la combustion organique va fournir à l'insecte « stabilisé » quant à ses rapports avec le milieu extérieur, la majeure partie de l'énergie qu'il lui faut dépenser pour se détruire et se réédifier.

Nous avons dit « la majeure partie », car à ces deux groupes de corps, il faut joindre celui qui sert, en quelque sorte, de pont entre eux, encore qu'une classification rigoureuse lui assigne une place fixe dans l'un d'eux : nous avons nommé les substances insaponifiables.

La chrysalide de lépidoptère offre donc ce spectacle curieux pour un chimiste biologiste : glucides et lipides concourant à l'analyse, puis à la synthèse des produits protidiques ; dans la trilogie biologique, les éléments des deux groupes conjuguent leurs potentiels énergétiques pour détruire et reconstituer les molécules du troisième.

Pour parfaire cette double action, pour coordonner ces efforts, jusqu'à l'aboutissant final, il fallait un catalyseur à ces puissances, un transformateur à ces énergies : c'est ce qui nous a amené à essayer de percer le mystère des diastases et des actions fermentatives.

Nous avons pu trouver pour quelques-unes leur mécanisme d'activité et s'il nous est permis de formuler un regret, en terminant, c'est, pour reprendre les propres termes d'un biochimiste contemporain, que la « statique » ne nous ait point permis de laisser à la « dynamique biologique » la place et le cadre auxquels elle avait droit.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

1. — *Les cristaux liquides dérivés du cholestérol.*
2. — *Le phosphore chez les végétaux.*

Vu et approuvé :

Paris, le 14 Octobre 1931

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Signé : Ch. MAURAIN

Le Président : P. PORTIER.

Vu et permis d'imprimer,

Le Recteur de l'Académie de Paris

Signé : S. CHARLÉTY.

